

Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava

Fakulta elektrotechniky a informatiky

Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství



**Návrh a testování elektrochemických senzorů pro možnost
monitorování nástupu kompartment syndromu**

**Design and realisation of electrochemical sensors for
compartment syndrom monitoring**

2019

Bc. Ladislav Havelka

VŠB - Technická univerzita Ostrava
Fakulta elektrotechniky a informatiky
Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Ladislav Havelka**

Studijní program: N2649 Elektrotechnika

Studijní obor: 3901T009 Biomedicínské inženýrství

Téma: **Návrh a testování elektrochemických senzorů pro možnost monitorování
nástupu kompartment syndromu
Design and Realisation of Electrochemical Sensors for Compartment
Syndrom Monitoring**

Jazyk vypracování: čeština

Zásady pro vypracování:

1. Seznámení se s problematikou kompartment syndromu.
2. Seznámení se s metodami zjištění a objektivizace kompartment syndromu.
3. Seznámení se s metodami neinvazivních elektrochemických měření monitorování projevů fyziologických tkání.
4. Návrh metody měření pomocí elektrochemických senzorů projevu kompartment syndromu.
5. Testování a realizace měření na senzorech.
6. Vyhodnocení a zpracováním naměřených dat.

Seznam doporučené odborné literatury:

- [1] KLINKOVSKÝ, Tomáš. *Spolehlivost a konstrukce lékařských přístrojů*. 1. vyd. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2013, 109 s. ISBN 978-80-248-3110-7.
- [2] KLINKOVSKÝ, Tomáš. *Návrh a konstrukce zdravotnické přístrojové techniky*. 1. vyd. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2013, 161 s. ISBN 978-80-248-3109-1.
- [3] SVATOŠ, Josef. *Biologické signály I: geneze, zpracování a analýza*. 1. vyd. Praha: České vysoké učení technické, c1992, 204 s. ISBN 80-01-00884-3.
- [4] PENHAKER, Marek, Martin IMRAMOVSKÝ, Petr TIEFENBACH a František KOBZA. *Lékařské diagnostické přístroje: učební texty*. 1. vyd. Ostrava: VŠB - Technická univerzita Ostrava, 2004, 320 s. ISBN 80-248-0751-3.
- [5] PEREZ, Reinaldo. *Design of medical electronic devices*. San Diego: Academic Press, c2002, xi, 279 s. ISBN 0-12-550711-9.
- [6] WEBSTER, John G a John W CLARK. *Medical instrumentation: application and design*. 3rd ed. Hoboken: Wiley, c1998, xix, 691 s. ISBN 0-471-15368-0.

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Marek Penhaker, Ph.D.**

Datum zadání: 01.09.2018

Datum odevzdání: 30.04.2019



doc. Ing. Jiří Koziolek, Ph.D.
vedoucí katedry



prof. Ing. Pavel Brandštetter, CSc.
děkan fakulty

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně. Uvedl jsem všechny literární prameny a publikace, ze kterých jsem čerpal.

Dne: 29. 4. 2019

Podpis: 

Poděkování

Rád bych poděkoval prof. Ing. Marku Penhakerovi, Ph.D. a Ing. Pavlu Raškovi, Ph.D. za odbornou pomoc a konzultaci při vytváření této diplomové práce.

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá návrhem a testováním elektrochemických senzorů pro možnost neinvazivní monitorace nástupu kompartment syndromu. Teoretická část práce se zabývá literární rešerší týkající se problematiky kompartment syndromu, jeho vzniku, rizikových faktorů, možnostech terapie a současnými metodami pro diagnostiku syndromu se zaměřením na neinvazivní metody a využití elektrochemických měření pro monitoraci zvyšujícího se intramuskulárního tlaku v průběhu kompartment syndromu.

Experimentální část práce se zabývá návrhem modelu simulujícího kompartment syndrom v laboratorních podmínkách, návrhem metodiky měření v navrženém modelu pro otestování elektrochemických senzorů a návrhem elektronických modulů pro zpracování signálu ze senzoru, konkrétně z ISFET pH senzoru, který se jeví jako vhodný prostředek pro neinvazivní diagnostiku kompartment syndromu, zejména z pohledu menší zátěže pro pacienta a možnostech měření i pod sádrovými dlahami. Dále je v modelovém systému kompartment syndromu testováno modifikované složení elektrolytu. V případě prokázání teoretických předpokladů, zejména vyšší citlivosti měření, by mohl být modifikovaný elektrolyt použit k výrobě nových senzorů pro neinvazivní diagnostiku kompartment syndromu.

Z provedeného otestování modifikovaného složení elektrolytu vyplývá, že v tomto modifikovaném složení elektrolytu není závislost pH na změně parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ v souladu s teoretickým předpokladem a do budoucna je nutno najít jiné složení, které bude vykazovat požadovaný průběh závislosti, tedy zvýšenou citlivost v zájmové oblasti měřených parciálních tlaků, které se projevují u postižených končetin kompartment syndromem. Tato práce jednoznačně umožnila orientaci v chemických dějích, které probíhají při kompartment syndromu v tkáni a nastínila možnost jejich záznamu pomocí ISFET pH senzoru.

Klíčová slova

Kompartment syndrom; diagnostika kompartment syndromu; neinvazivní diagnostika; změny tkáňového pH; intrakompartmentální tlak

Abstract

The diploma thesis deals with design and realization of electrochemical sensors for noninvasive compartment syndrome monitoring. The theoretical part of the thesis deals with the literature review concerning the problems of compartment syndrome, its origin, risk factors, possibilities of therapy and current methods for syndrome diagnosis with a focus on non-invasive methods and the use of electrochemical measurements for monitoring of increasing intramuscular pressure during compartment syndrome.

The experimental part of the thesis deals with the design of the model simulating compartment syndrome in laboratory conditions, the design of the measurement methodology in the proposed model for testing electrochemical sensors and designing electronic modules for signal processing from the sensor, namely the ISFET pH sensor, which appears to be a suitable tool for non-invasive diagnostics compartment syndrome, especially in terms of less patient burden and measurement options even under plaster plates. Furthermore, a modified electrolyte composition is tested in the compartment syndrome model system. If theoretical assumptions are demonstrated, particular a higher measurement sensitivity, the modified electrolyte could be used to produce new sensors for non-invasive diagnosis of compartment syndrome.

The testing of the modified electrolyte composition results in the fact that in this modified electrolyte composition the dependence of pH on the change of the partial pressure of $p\text{CO}_2$ is not in accordance with the theoretical assumption and in the future it is necessary to find another composition which will show the desired course of dependence, ie increased sensitivity in the area of interest measured partial pressures that manifest in the affected limbs compartment syndrome. This work clearly enabled the orientation in the chemical processes that take place in the compartment syndrome in the tissue and outlined the possibility of their recording using the ISFET pH sensor.

Key words

Compartment syndrome; diagnosis of compartment syndrome; noninvasive diagnostics; tissue pH changes; intracompartmental pressure

Obsah

Seznam použitých symbolů a zkratek	10
Seznam ilustrací	12
Seznam tabulek	15
1 Úvod.....	16
2 Cíle práce	18
3 Teoretická část	19
3.1 Kompartment syndrom	19
3.1.1 Patofyziologie.....	19
3.1.2 Anatomická lokalizace kompartment syndromu	20
3.1.3 Příčiny vzniku a rizikové faktory	24
3.1.4 Možnosti terapie	25
3.2 Současné možnosti v diagnostice kompartment syndromu	27
3.2.1 Klinické symptomy.....	27
3.2.2 Měření tlaků v IP	28
3.2.2.1 Invazivní měření IP tlaku.....	29
3.2.2.2 Neinvazivní měření IP tlaku	36
3.2.3 Neinvazivní elektrochemické monitorování projevů fyziologických tkání	43
3.2.4 Návrh elektrochemického měření k otestování elektrochemických senzorů pro neinvazivní diagnostiku kompartment syndromu.....	46
3.3 Měření pH.....	48
3.3.1 Princip měření pH.....	48
3.3.2 Elektrody pro měření pH	50
3.4 Plyny	54
3.4.1 Henryho a Raoultův zákon	55
4 Experimentální část.....	56
4.1 Návrh testování na modelovém systému CO ₂ – vzduch	56
4.1.1 Metodika měření závislosti pH na parciálním tlaku CO ₂	57
4.1.2 Návrh měření pomocí ISFET senzorů	58
4.1.2.1 Návrh elektroniky pro vyhodnocovací část	58
4.1.2.2 Návrh DPS a osazení komponenty	61
4.2 Realizace experimentu	69
4.2.1 Použité vybavení a chemikálie	69

4.2.2	Konstrukce experimentální aparatury	77
4.2.3	Příprava roztoku elektrolytu	78
4.2.4	Měření pH – sběr a vyhodnocení dat pH metru WTW	80
4.2.5	Kalibrace pH metru.....	82
4.2.6	Stanovení podmínek experimentu	84
4.2.6.1	Stanovení maximálního průtoku směsi plynu	84
4.2.6.2	Regulace teplot - teplotní gradienty termostatické lázně – lázeň – elektrolyt	86
4.2.6.3	Dynamika teplotní regulace – teplotní stabilita lázně.....	87
4.2.6.4	Kalibrace průtokoměrů	89
4.2.6.5	Ustavování chemické rovnováhy	103
4.2.7	Experimentální procedura.....	107
5	Výsledky a diskuze	108
6	Závěr	123
	Použitá literatura	126

Seznam použitých symbolů a zkratek

Zkratka	Význam
ACS	Acute compartment syndrome - akutní kompartment syndrom
a_{ion}	Aktivita iontů
c	koncentrace
COM	Hardwarové rozhraní (sériová linka)
CS	Compartment syndrome - kompartment syndrom
DPS	Deska plošných spojů
E_{asym}	Asymetrický potenciál
EEG	Elektroencefalograf
EKG	Elektrokardiograf
E_m	Membránový potenciál
ER	Poměr elasticity
F	Faradayova konstanta
ICP	Intracompartmental pressure - intrakompartmentální tlak
ID	IDentification (identifikace)
IP	Intrafasciální prostor
ISFET	Ion-Sensitive-Field_Effect Transistor (iontově senzitivní tranzistor s efektem pole)
k	Henryho konstanta
M	Molární koncentrace
m	Hmotnost
MF BIA	Multifrequency bioelectrical impedance analysis - multifrekvenční bioelektrická impedanční analýza
N	Elektrochemická hodnota
n	Látkové množství
NCSE	Noninvasive Compartment Syndrome Evaluator
NIRS	Near infrared spectrography
p	Parciální tlak
p_{oi}	Parciální tlak syté páry nad čistou i-tou složkou

P_{aO_2}	Parciální tlak kyslíku v arteriální krvi
P_{atm}	Okolní tlak
PC	Personal Computer (osobní počítač)
pCO_2	Parciální tlak oxidu uhličitého
p_i	Parciální tlak syté páry i-té složky
pO_2	Parciální tlak kyslíku
PPLL	Pulse phase-locked loop - pulzní fázový závěs
R	Plynová konstanta
rSO_2	Lokální saturace kyslíku
SWE	Shear Wave Elastography - elastografie střižných vln
T	Teplota
t	Čas
U_0	Napětí offsetu
U_{GS}	Napětí mezi hradly Gate a Source
USB	Universal Serial Bus (universální sériová sběrnice)
UZV	Ultrazvuk
V	Objem
V_m	Objemový průtok vzduchu
V_{mCO_2}	Objemový průtok oxidu uhličitého
x	Molární zlomek rozpuštěného plynu v roztoku
x_i	Molární zlomek rozpuštěného plynu i-té složky v roztoku
φ_{CO_2}	Objemový zlomek oxidu uhličitého
φ_i	Objemový zlomek i-té složky

Seznam ilustrací

Obrázek 1: Kompartmenty bérce [9].....	20
Obrázek 2:Kompartmenty stehna [5]	21
Obrázek 3:Kompartmenty chodidla [48].....	22
Obrázek 4: Kompartmenty předloktí [5]	23
Obrázek 5: Kompartmenty ruky [10]	23
Obrázek 6: Fasciotomie bérce [13]	26
Obrázek 7: Reálná fotografie provedené fasciotomie bérce [50].....	26
Obrázek 8: Modifikovaná Whitesideho metoda měření IP tlaku [53]	30
Obrázek 9: Tlakový monitor Stryker [54]	31
Obrázek 10: Digitální měřič ICP Compass [56]	32
Obrázek 11: Princip funkce optického snímače [57]	32
Obrázek 12: Zařízení pro invazivní optické měření ICP [58]	33
Obrázek 13: Piezoelektrický měřič tlaku [60].....	34
Obrázek 14: Zařízení NCSE [27]	37
Obrázek 15: NIRS [63]	38
Obrázek 16: Přístroj technologie NIRS pro měření ICP [63]	39
Obrázek 17:UZV sonda s připevněným snímačem tlaku [33]	40
Obrázek 18: Konstrukce Severinghausovy elektrody [85].....	43
Obrázek 19: Konstrukce Clarkovy elektrody [85]	44
Obrázek 20: Konstrukce a princip transkutánní Clarkovy elektrody [82]	45
Obrázek 21: Závislost pH na změnách pCO ₂ [47].....	46
Obrázek 22: Závislost změny pH na pCO ₂ v modifikovaném elektrolytu [47].....	47
Obrázek 23: pH škála s vyznačenými oblastmi [67]	48
Obrázek 24: Chemické pochody na skleněné membráně [69]	49
Obrázek 25: Skleněná elektroda [65]	50
Obrázek 26: Princip ISFET senzoru [71].....	51
Obrázek 27: a)Návrh čipu a elektroda Gate, b)ISFET elektroda [86].....	52
Obrázek 28: Principiální zapojení zesilovačů pro měření s ISFET senzory [76].....	53
Obrázek 29: Návrh modelového systému pro simulaci kompartment syndromu.	56
Obrázek 30: Schéma zapojení modulu pro vyhodnocení signálu z ISFET senzoru.....	58

Obrázek 31: Schéma zapojení modulu pro vyhodnocení signálu z ISFET senzoru.....	59
Obrázek 32: Symetrický napájecí zdroj ± 12 V	60
Obrázek 33: Návrh DPS pro výrobu, Rozmístění komponent na DPS	61
Obrázek 34: Návrh modulu pro výrobu DPS, Rozmístění komponent na DPS	62
Obrázek 35: Návrh DPS pro výrobu symetrického stabilizovaného napájecího zdroje ± 12 V	63
Obrázek 36: Modul pro zpracování signálu z ISFET senzoru	65
Obrázek 37: Druhý modul pro zpracování signálu z ISFET senzoru.....	66
Obrázek 38: Stabilizovaný symetrický zdroj ± 12 V	67
Obrázek 39: Kalibrační křivka ISFET senzoru pro první modul	68
Obrázek 40: Kalibrační křivka ISFET senzoru pro druhý modul	68
Obrázek 41: Vodní lázeň JULABO TW2	70
Obrázek 42: Průtokoměry SUPELCO 503851 s detailem stupnice	71
Obrázek 43: Trojhrdlá baňka o objemu 500 ml	72
Obrázek 44: Probublávačka s detailem vodního sloupce	72
Obrázek 45: Termočlánek s vyhodnocovací jednotkou	73
Obrázek 46: pH metr WTW s pH elektrodami.....	74
Obrázek 47: Tester patientských ventilátorů FLUKE VT PLUS HF s detailem displeje	75
Obrázek 48: Skleněný bublinový flowmeter s detailem cejchované stupnice	76
Obrázek 49: Koncepce sestavení vybavení pro model kompartment syndromu.....	77
Obrázek 50: Celková konstrukce experimentální aparatury	78
Obrázek 51: Odvážení látek pro přípravu elektrolytu - laboratorní váha ACCULAB.....	79
Obrázek 52: Software OS terminal pro příjem naměřených dat pomocí pH metru WTW	81
Obrázek 53: Kalibrační pufrы a sestava pH metru	82
Obrázek 54: Kalibrační protokol zobrazený na displeji přístroje.....	83
Obrázek 55: Kalibrační protokol v programovém prostředí komunikátoru	83
Obrázek 56: Stanovení celkového průtoku směsi plynu – (50 a 100 ml/min)	85
Obrázek 57: Stanovení celkového průtoku směsi plynu – (200, 1300 a 2300 ml/min)	85
Obrázek 58: Teploty lázně a elektrolytu v závislosti na době ohřevu.....	87
Obrázek 59: Teplota elektrolytu po 30 minutách ohřevu.....	88
Obrázek 60: Teplotní stabilita elektrolytu v průběhu míchání	88
Obrázek 61: Hodnoty průtoků z kalibračního listu průtokoměru.....	89
Obrázek 62: Odlišnost reálných průtoků od kalibračního listu	90

Obrázek 63: Reálné hodnoty průtoků s rozdělením do tří oblastí s proložením polyn. křivkou	90
Obrázek 64: Odlišnost reálných průtoků od kalibračního listu	91
Obrázek 65: odlišnost reálných průtoků CO ₂ od kalibračního listu	92
Obrázek 66: Reálné hodnoty průtoků CO ₂ v nízké oblasti.....	92
Obrázek 67: Kalibrační list - vzduch (stainless steel kulička)	94
Obrázek 68: Odlišnost reálných průtoků od kalibračního listu	96
Obrázek 69: Reálně naměřené hodnoty průtoků vzduchu (stainless steel kulička)	96
Obrázek 70: Kalibrační list – CO ₂ (glass kulička)	97
Obrázek 71: Odlišnost reálných průtoků od kalibračního listu	99
Obrázek 72: Reálné hodnoty průtoků CO ₂ proložené polynomickými křivkami	99
Obrázek 73: Ustavení rovnováhy pH v objemu 250 ml a 500 ml pro obj. průtok CO ₂ 2 %	104
Obrázek 74: Ustavení rovnováhy pH v objemu 250 ml a 500 ml pro obj. průtok CO ₂ 8 %	105
Obrázek 75: Ustavení rovnováhy pH v objemu 250 ml a 500 ml pro obj. průtok CO ₂ 14 %	105
Obrázek 76: Závislost změny pH na pCO ₂ v elektrolytu NaHCO ₃ (1. den, skleněná elektroda).....	109
Obrázek 77: Závislost změny pH na pCO ₂ v elektrolytu NaHCO ₃ (2. den, skleněná elektroda).....	109
Obrázek 78: Průběh závislosti změny pH na pCO ₂ v elektrolytu NaHCO ₃	110
Obrázek 79: Závislost změny pH na pCO ₂ v modif. elektrolytu (1. den, skleněná elektroda).....	110
Obrázek 80: Závislost změny pH na pCO ₂ v modif. elektrolytu (2. den, skleněná elektroda).....	111
Obrázek 81: Průběh závislosti změny pH na parciálním tlaku pCO ₂ v modifikovaném elektrolytu ...	111
Obrázek 82: Porovnání závislostí změny pH na pCO ₂ ve dvou ověřovaných elektrolytech.....	112
Obrázek 83: Závislost změny pH na pCO ₂ v elektrolytu NaHCO ₃ (1. den, ISFET senzor)	115
Obrázek 84: Závislost změny pH na pCO ₂ v elektrolytu NaHCO ₃ (2. den, ISFET senzor)	115
Obrázek 85: Průběh závislosti změny pH na parciálním tlaku pCO ₂ v elektrolytu NaHCO ₃	116
Obrázek 86: Závislost změny pH na pCO ₂ v modif. elektrolytu (1. den, ISFET senzor)	116
Obrázek 87: Závislost změny pH na pCO ₂ v modif. elektrolytu (2. den, ISFET senzor)	117
Obrázek 88: Průběh závislosti změny pH na pCO ₂ v modifikovaném elektrolytu	117
Obrázek 89: Porovnání závislostí změny pH na pCO ₂ ve dvou ověřovaných elektrolytech naměřeno ISFET pH senzorem	118
Obrázek 90: Porovnání naměřených závislostí pH na změně pCO ₂ v roztoku NaHCO ₃	120
Obrázek 91: Porovnání naměřených závislostí pH na změně pCO ₂ v modifikovaném roztoku elektrolytu	121

Seznam tabulek

Tabulka 1: Rizikové faktory pro vznik CS [49]	24
Tabulka 2: Vliv symptomů na vznik CS [51].....	27
Tabulka 3: Kritické hodnoty IP tlaku pro indikaci dekompresní fasciotomie dle jednotlivých autorů..	29
Tabulka 4: Rozpis součástek	61
Tabulka 5: Rozpiska součástek pro druhý elektronický modul.....	62
Tabulka 6: Rozpiska součástek pro osazení DPS.....	64
Tabulka 7: Teplota elektrolytu v závislosti na nastavené teplotě vodní lázně (bez míchání)	86
Tabulka 8: Reálné hodnoty průtoků vzduchu v závislosti na stupnici průtokoměru:	95
Tabulka 9: Změřené hodnoty průtoků CO ₂ :	98
Tabulka 10: Koncentrace plynů ve směsi pro celkový průtok 50 ml s odpovídající hodnotou na stupnici rotametu.....	100
Tabulka 11: Korigované hodnoty nastavení stupnice a odpovídající průtoky plynů	101
Tabulka 12: Stanovení celkového reálného průtoku směsi plynu.....	102
Tabulka 13: Porovnání předpokládaných a skutečně změřených hodnot celkového průtoku pro jednotlivá nastavení objemových zlomků plynů	103
Tabulka 14: Změřené hodnoty pH v závislosti na hodnotě parciálního tlaku pCO ₂ v modelové simulaci CS pro dva roztoky elektrolytu – měřeno skleněnou elektrodou.....	113
Tabulka 15: Hodnoty pH v závislosti na změně parciálního tlaku pCO ₂ v zájmových oblastech pro oba roztoky elektrolytů, měřeno skleněnou elektrodou	114
Tabulka 16: Změřené hodnoty pH v závislosti na hodnotě parciálního tlaku pCO ₂ v modelové simulaci CS pro dva roztoky elektrolytu – měřeno skleněnou elektrodou.....	119

1 Úvod

Kompartment syndrom je často opomíjený a podceňovaný stav po traumatologických úrazech nebo chirurgických zákrocích. Úspěch v léčbě tohoto syndromu tkví zejména ve včasné a správné diagnóze a přistoupení k samotné terapii. Při zanedbání nebo pozdním zahájení terapie mohou být pacientům amputovány postižené končetiny v důsledku tkáňové nekrózy, způsobené útlakem cév zvyšujícím se intramuskulárním tlakem uvnitř končetiny. V současné době jsou za „zlatý standard“ v diagnostice kompartment syndromu považovány invazivní metody, konkrétně nejčastěji používaný stryker monitor. Tyto metody mají řadu nevýhod a pro pacienta jsou zatěžující, protože se jehly měřících přístrojů opakovaně punktuji přímo do postižené oblasti. I přes existenci některých možných neinvazivních metod, nejsou tyto metody v praxi příliš využívány. Některé neinvazivní metody jsou v současné době ve vývoji a je nutné jejich otestování v klinické praxi a potvrzení možnosti jejich využití. Je tedy stále snahou vyvinout neinvazivní metodu, která bude využívat vhodný biomarker ke stanovení intramuskulárního tlaku uvnitř končetiny. Jako vhodné senzory se z pohledu technických parametrů pro tento účel jeví ISFET pH senzory, kterými by bylo možné měřit neinvazivně na kůži pacienta a díky jejich rozměrům je lze aplikovat i pod sádrové dlahy, což u většiny dnes dostupných přístrojů pro diagnostiku CS, není možné. Cílem práce je tedy ověřit možnost jejich použití pro tento účel.

Úvodní kapitoly této práce jsou věnovány teoretickému rozboru kompartment syndromu. Konkrétně jsou zaměřeny na popis tohoto syndromu, jeho příčiny vzniku, anatomické lokalizace a rizikové faktory s možnostmi terapie. Následuje rešerše současných dostupných metod pro diagnostiku kompartment syndromu, jak invazivních, tak i neinvazivních, s hledáním vhodného biomarkeru pro použití ISFET pH senzorů, kterými by mohl být tento biomarker zaznamenáván a vypovídal by o vývoji syndromu u pacientů. V teoretické části práce je dále pojednáváno o návrhu elektrochemického měření, kterým by mohla být potvrzena možnost využití ISFET senzorů a zároveň by mohly být ověřeny teoretické předpoklady pro použití modifikovaného složení elektrolytu. Ten by následně mohl být využit k průmyslové výrobě nových senzorů pro neinvazivní kontinuální diagnostiku kompartment syndromu.

Experimentální část práce je zaměřena na návrh modelového systému, který simuluje průběh kompartment syndromu představovaný zvyšujícím se parciálním tlakem CO_2 v laboratorních podmínkách. Pro tento model byla navržena metodika měření. Na základě návrhu simulačního modelu kompartment syndromu byla sestavena celková aparatura a stanoveny experimentální podmínky, aby se chování navrženého modelu co nejvíce přiblížilo reálnému průběhu kompartment syndromu v lidské tkáni. Součástí této části práce je také návrh elektronických vyhodnocovacích modulů, ke kterým lze připojit výstup ISFET pH senzoru a realizovat tak potřebná měření v navrženém simulačním modelu.

Cílem práce je ověřit možnost použití ISFET pH senzorů pro neinvazivní diagnostiku kompartment syndromu. Potvrzení této hypotézy by vedlo k vývoji nového měřícího prostředku, kterým by bylo možné realizovat neinvazivní kontinuální monitoraci kompartment syndromu v průběhu léčby traumat. Toto řešení by značně eliminovalo zátěž pro pacienty, která je s použitím současných invazivních metod obrovská.

Dalším cílem je otestovat funkčnost simulačního modelu i s využitím ISFET pH senzoru s elektrolytem modifikovaného složení. Cílem zájmu je značně vyšší citlivost v oblastech měřených hodnot parciálních tlaků uvnitř tkáně při průběhu kompartment syndromu. V případě potvrzení těchto předpokladů by mohlo dojít k vývoji zcela nového senzoru s mnohem vyšší citlivostí, než které mají současné komerčně dostupné senzory.

2 Cíle práce

Cílem diplomové práce je návrh a testování elektrochemických senzorů pro možnost monitorování nástupu kompartment syndromu. Cíl diplomové práce byl rozdělen na následující dílčí cíle:

- Zpracování literární rešerše týkající se problematiky kompartment syndromu, jeho vzniku, rizikových faktorů a možnostech terapie.
- Zpracování literární rešerše zabývající se současnými možnostmi v diagnostice kompartment syndromu.
- Zpracování literární rešerše neinvazivních elektrochemických měření monitorování projevů fyziologických tkání.
- Možnosti použití ISFET - pH senzorů pro diagnostiku nástupu kompartment syndromu - návrh elektroniky pro vyhodnocovací část.
- Návrh experimentální metodiky a konstrukce experimentální aparatury pro měření parciálního tlaku oxidu uhličitého v modelovém systému CO_2 - vzduch.
- Návrh nového složení elektrolytu ISFET senzoru na základě literární rešerše.
- Ověření funkčnosti a dostatečné citlivosti vybraného elektrolytu pomocí pH elektrody a srovnání získaných výsledků s výsledky standardně dodávaných ISFET senzorů.

3 Teoretická část

3.1 Kompartment syndrom

Kompartment syndrom poprvé popsal Richard von Volkmann v roce 1881. Kompartment syndrom (CS) je definován jako stav, při němž zvýšený tkáňový tlak uvnitř uzavřeného prostoru (kompartmentu) poškozuje cirkulaci a neuromuskulární funkci tkáně, jež vyplňuje kompartment. U pacientů se může vyskytnout po chirurgických zákrocích, traumatologických úrazech a velké námaze při cvičení. Nejčastěji postižená místa jsou dolní končetiny a předloktí. Pokud neproběhne včasná diagnóza a zahájení léčby, může vést až k trvalému poškození nervů, amputaci postižených oblastí dokonce i úmrtí pacienta. [1], [2]

Kompartment syndrom může být klasifikován do několika skupin. Může být tzv. primární, kdy příčina vzniku patologického stavu je uvnitř kompartmentu, dále pak sekundární, kdy je příčina vzniku patologického stavu mimo postižený kompartment. Z hlediska etiologie jej dělíme například na stavy po traumatu, popáleninách a sepsích. Vzhledem k tomu, že se jedná o syndrom a ne nemoc jako takovou, může být kompartment syndrom vyvolán mnoha patofyziologickými procesy.[3]

3.1.1 Patofyziologie

Kompartment syndrom může nastat při zvyšování tkáňového tlaku v prostoru obaleném fascií a skeletem v jakékoliv oblasti těla, která má malou nebo žádnou kapacitu pro expanzi tkáně. Funkčnost tkání je podmíněna cévní perfúzí, která je dostatečná pro jejich metabolické nároky. V postupném rozvoji CS dochází na základě zvýšení tlaku v intrafasciálním prostoru k omezení této perfúze. Prokrvení tkáně je úměrné rozdílu mezi tlakem kapilární perfúze (CPP) a tlakem v intrafasciálním prostoru.[4]

Když kapalina vstupuje do prostoru pevného objemu (kompartmentu), například z důvodu krvácení, dochází ke zvýšení tlaku v tkáni a také ke zvýšení venózního tlaku. Normální krevní perfúze znamená, že svaly jsou perfundovány krví pod tlakem přibližně 30 torrů. Klidový tlak v tkáních v intrafasciálním prostoru je asi 3-5 torrů. Pokud dojde k vzestupu tlaku uvnitř intrafasciálního prostoru, nastane změna perfúzních poměrů. Jakmile tlak v intrafasciálním prostoru převyší kapilární tlak, dochází ke kapilárnímu kolapsu s následnou lokální svalovou a nervovou ischemií.[5],[4] Tento proces vede k nástupu buněčné smrti. Buněčné membrány se rozpadají a do intersticiálního prostoru se uvolňuje osmoticky aktivní buněčný obsah, což způsobuje další akumulaci intravazální tekutiny a další zvýšení tlaku uvnitř kompartmentu a zvětšení edému.[6]

Syndrom při nevčasném chirurgickém zásahu obvykle vede k nekróze svalů, amputaci končetin, u zvláště závažných případů k selhání ledvin a úmrtí pacienta.[7]

Studie prokázaly, že bez okamžité léčby dochází k poškození buněk do dvou hodin. Při svalové ischemii trvající déle jak čtyři hodiny dochází k nevratným změnám ve svalstvu, je však možná obnova jeho funkce. Po déle jak osmi hodinách je poškození svalové a nervové funkce úplně a nevratné.[1], [8]

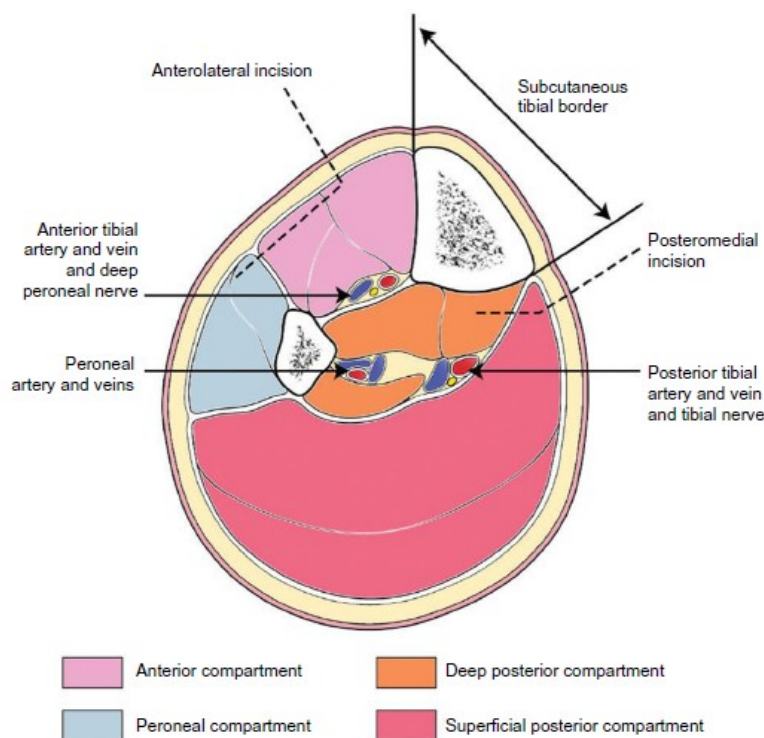
3.1.2 Anatomická lokalizace kompartment syndromu

S kompartment syndromem se z hlediska anatomické lokalizace můžeme setkat tam, kde je sval a nervově cévní svazek uzavřen ve fasciálním obalu.[4]

Prostory bérce

Bérec je nejčastějším místem lokalizace CS na dolní končetině. Důvodem jsou především anatomické predispozice a také častý výskyt zranění. Bérec se skládá ze čtyř anatomických kompartmentů (intrafasciálních prostorů).

- Přední část obsahuje m. tibialis anterior, m. extensor digitorum longus, m. extensor hallucis longus a m. peroneus tertius. Tento prostor je poměrně velmi těsně uzavřen a riziko vzniku CS je zde především při přímém poranění intrafasciálního prostoru velmi vysoké.
- Laterální část obsahuje pouze dva svaly, m. peroneus longus a m. peroneus brevis. Tento prostor může být poraněn při zlomeninách v oblasti fibuly.
- Zadní povrchová část obsahuje m. gastrocnemius a m. soleus. Svaly tohoto prostoru jsou klíčové pro flexi v kolenní a pohyb v talocrurálním kloubu, distální část přechází v Achillovu šlachu.
- Hluboký zadní kompartment obsahuje m. tibialis posterior, m. flexor hallucis longus a flexor digitorum longus.[5], [4]

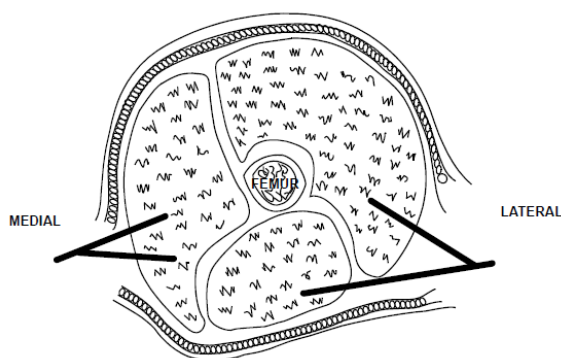


Obrázek 1: Kompartmenty bérce [9]

Prostory stehna

V oblasti stehna rozlišujeme 3 kompartmenty. Lokalizace CS je v této oblasti poměrně vzácná. V etiologii bývá většinou uváděno cévní poranění nebo závažné zlomeniny či nesprávné použití skeletální trakce.[4]

- Přední část se skládá z čtyřhlavého svalu
- Zadní kompartment
- Mediální oddíl sestávající se z aduktorních svalů (přitahovače) [5]



Obrázek 2:Kompartmenty stehna [5]

Prostory chodidla

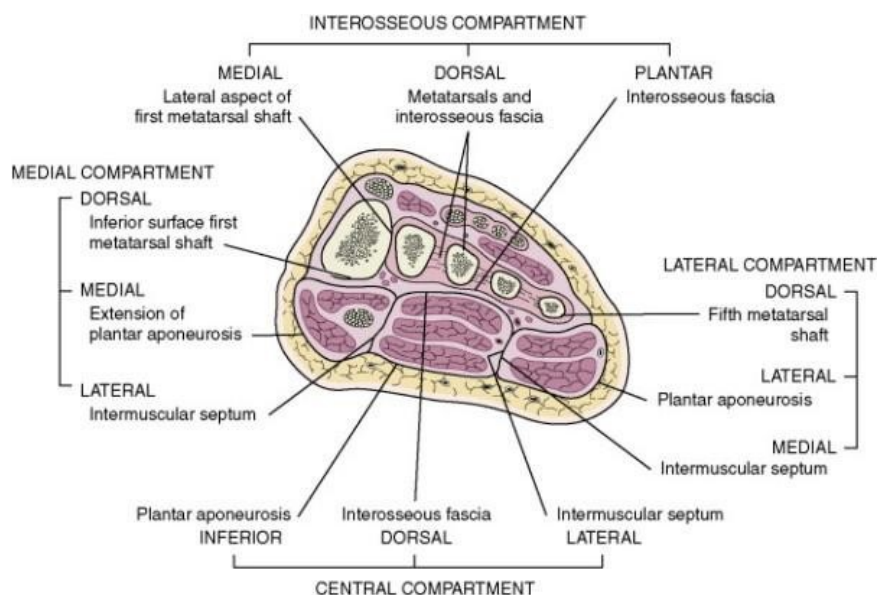
V prostorách nohy se CS vyskytuje přibližně stejně často jako na ruce. Příčinou jsou především těžká zhmoždění.[4]

Rozdělení intrafasciálních prostorů na nohou je sporné. Někteří autoři uvádějí rozdělení na 4 základní prostory (mediální, laterální, centrální a intraosseální). Setkáváme se ale i s podrobnějším členěním na 9 částí.

- Mediální
 - m. abductor hallucis
 - m. flexor hallucis brevis
- Laterální
 - m. abductor digiti minimi
 - m. flexor digiti minimi brevis
- m. interosseous (4×)
- Centrální (3×)
 - superficiální
 - m. flexor digitorum brevis
 - střední
 - m. quadratus plantae
 - hluboký

- m. abductor hallucis
- m. posterior tibial neurovascular bundle [5]

Na následujícím *obrázku 3* jsou znázorněny výše zmíněné anatomické kompartmenty nohy.



Obrázek 3: Kompartmenty chodidla [48]

Prostory paže

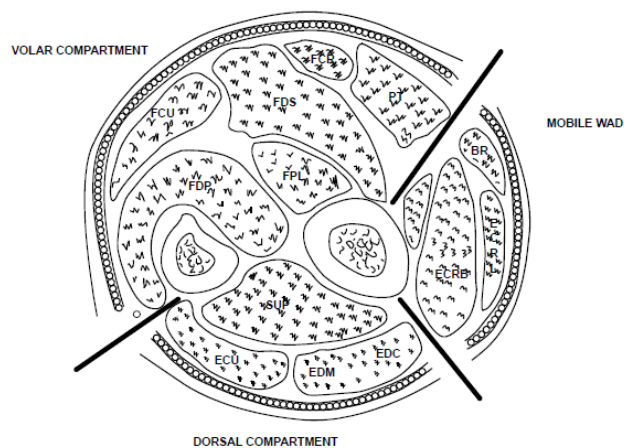
Výskyt CS zde není tak častý vzhledem k anatomickým poměrům, kdy intrafasciální prostory nejsou těsně uzavřeny. Rovněž závažnost a počet traumat paže není velký.[4]

Prostory předloktí

Na předloktí anatomicky rozlišujeme tři intrafasciální prostory. Svalová ischemie bývá častější na volární straně. CS předloktí je znám především jako pozdní následek suprakondylické fraktury humeru u dětí ve formě Volkmannovy kontraktury.[4]

- Laterální pohyblivá část na radiálně straně zahrnuje m. brachioradialis, m. extensor carpi radialis longus a m. brevis.
- Volární prostor zahrnuje povrchové a hluboké flexory.
- Dorzální prostor se skládá ze svalů zajišťujících extensi.

CS zde bývá nejčastěji vyvolán zhmožděním měkkých tkání a krvácením, řidčeji bývá způsoben skeletálním traumatem. Jedná se o velmi časté místo útlaku intrafasciálních prostorů nesprávně přiloženými sádrovými obvazy.[4], [5]

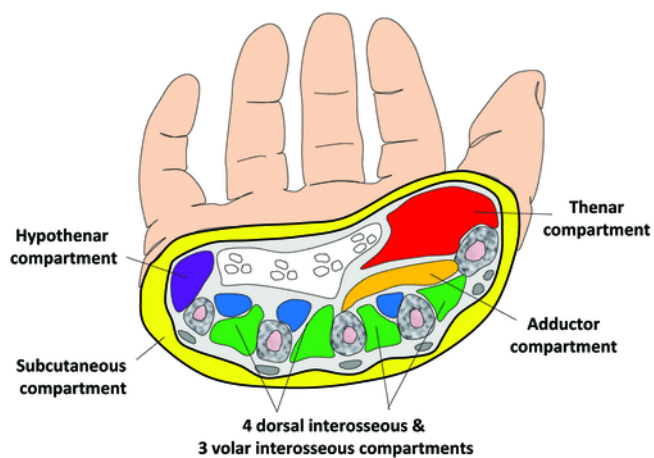


Obrázek 4: Kompartmenty předloktí [5]

Prostory ruky

CS zde není příliš častý, v etiologii většinou figuruje zhmoždění ruky. Ruku můžeme anatomicky rozdělit na 10 myofasciálních kompartmentů.

- Čtyři dorzální m. interosseous
- Tři palmární m. interosseous
- Tenární a hypotenární kompartment
- m. adductor pollicis [4], [5], [10]



Obrázek 5: Kompartmenty ruky [10]

Jiné lokalizace

CS se nemusí vyskytovat pouze na končetinách. Zejména v poslední době se věnuje značná pozornost abdominální a hrudní formě tohoto syndromu. Patofyziologie je identická, stejně jako způsob léčby. Příčinou je zvýšení tlaku v abdominální nebo hrudní dutině. V etiologii je většinou uváděn úrazový děj.[4]

3.1.3 Příčiny vzniku a rizikové faktory

Znalost etiologických souvislostí je klíčová pro stanovení včasné diagnózy. Základní faktory, které mohou CS vyvolat, jsou tři:

- Zvýšený tlak uvnitř intrafasciálního prostoru
- Útlak intrafasciálního prostoru zvenčí
- Zmenšení objemu intrafasciálního prostoru [7]

Nejčastějším etiologickým faktorem je trauma, především zlomeniny a těžká poranění měkkých tkání. Může se také objevit jako chirurgická komplikace poté, co chirurg obnoví průtok krve v důsledku zablokované cirkulace.[49]

Nejčastějším místem výskytu syndromu je noha, zejména její bérceová část, dalším nejběžnějším místem bývá předloktí. V jednom případě byla zlomenina příčinou vzniku ACS u 69 % ze 164 pacientů. Zlomenina tibiální diafýzy byla příčinou vzniku ACS u 36 % pacientů, distální radiální fraktura u 9,8 % pacientů, diafyzální fraktura radiusu a ulny u 7,9 % pacientů, po zlomenině femuru se objevil ACS u 3 % pacientů a po zlomenině tibiální plošiny také u 3 % pacientů. Po zranění měkkých tkání došlo k výskytu u 23 % pacientů. Je však nutné si uvědomit, že CS může vzniknout také nesprávným přiložením sádrové fixace.[4],[7]

V praxi se také setkáváme s chronickým kompartment syndromem, který se může vyskytnout především u aktivních mladých sportovců. Příčinou je zvětšený objem svalů po cvičení a zvýšený hydrostatický tlak v kapilárách s přesunem intravaskulární tekutiny do intersticia.[4]

V následující tabulce 1 jsou uvedeny rizikové faktory pro vznik CS.

Tabulka 1: Rizikové faktory pro vznik CS [49]

Akutní CS
Tříštivé zranění končetin a zlomeniny
Těsné bandáže a sádrové fixace
Sport
Užívání antikoagulancí zvyšujících riziko krvácení v kompartmentu
Osoby s poruchou krvácení (hemofilie)
Chronický CS
Sportovci mladší 30 let
Užívání anabolických steroidů nebo kreatinu
Zvýšená fyzická zátěž během sportu

Ročně se akutní CS vyskytuje průměrně u 3,1 ze 100 000 osob. U mužů je výskyt syndromu asi desetkrát častější než u žen, nejpravděpodobněji kvůli vyššímu objemu svalstva. Průměrný věk u mužů se pohybuje okolo 30 let, zatímco u žen okolo 44 let.[5], [7]

3.1.4 Možnosti terapie

Základem léčby zůstává chirurgická dekomprese postižených intrafasciálních oblastí. Cílem je snížení zvýšeného tkáňového tlaku, obnovení krevní perfúze postižené oblasti a odstranění nekrotických tkání.[11]

Klíčovým bodem v terapeutické rozvaze zůstává otázka, zda se má okamžitě indikovat radikální zákrok, nebo zda je možné přistoupit ke konzervativnímu způsobu léčby. Jestliže se stav jeví pouze jako podezření na CS (klinické příznaky nejsou rozvinuty a hodnoty tlaku v intrafasciálním prostoru jsou hraniční, 20 – 30 mmHg), může se zvolit z počátku konzervativní cesta. Podmínkou je ovšem permanentní monitorace tlaků v intrafasciálním prostoru.[4]

Mezi konzervativní způsoby léčby patří farmakoterapie. Ta spočívá v antibiotické terapii, zavedení antiedematózní léčby, možné je také využít systémové enzymoterapie, vazodilatačních směsí, analgetik, antiflogistik a malých dávek antihistaminik. Naopak není doporučena antikoagulační léčba z důvodu možnosti krvácení do intrafasciálního prostoru.[4]

Další možností je hyperbarická oxygenoterapie, při níž pacient vdechuje čistý kyslík za zvýšeného atmosférického tlaku a dochází tak k lepšímu prokrvení tkání, zmenšení edémů a nekrózy svalů v kompartment syndromu.[12]

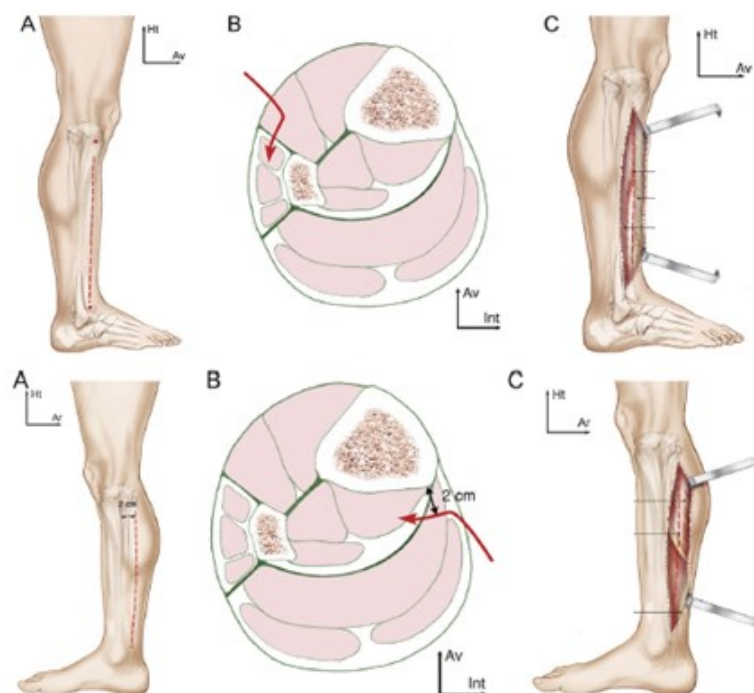
Fasciotomie

Jedná se o chirurgický výkon vedoucí k dekompresi intrafasciálních prostorů. Fasciotomie musí být provedena před vznikem ireverzibilní tkáňové nekrózy. V závislosti na místě výskytu CS je zvolena příslušná technika řezu tkáně.[4], [6]

Rozhodnutí, zda zvolit tento postup léčby, může být někdy složité. Zejména v souvislosti s nutností dalšího chirurgického zákroku pro uzavření rány nebo vložení kožního štěpu. Pacientům může způsobit komplikace v podobě kosmetického vzhledu končetiny, bolestí, poranění nervů, svalové slabosti a chronické venózní insuficience. Navíc se zvyšují náklady na péči. Je všeobecně uznáváno, že provedení zbytečné fasciotomie je lepší, než provést tento zákrok pozdě nebo vůbec a čelit tak zanedbání péče u pacienta s příznaky ACS. Proto by se k této formě léčby mělo přistupovat ihned po zjištění přítomnosti ACS. Kvůli výše zmíněným aspektům této terapie je v dnešní době snaha o nalezení méně invazivního přístupu při léčbě ACS.[6]

Efektivní fasciotomie pro oblast bérce vyžaduje uvolnění všech čtyř prostorů. To se realizuje pomocí dvou řezů po celé délce bérce. První řez je antero-laterální, pro dekompresi předního a laterálního kompartmentu. Druhým postero-mediálním řezem dojde k dekompresi hlubokého a superficiálního (povrchového) kompartmentu.[13]

Postup zmíněné fasciotomie bérce je znázorněn na následujícím obrázku.



Obrázek 6: Fasciotomie bérce [13]

Reálnou fotografii znázorňující provedenou fasciotomii bérce lze vidět níže na obrázku 7.



Obrázek 7: Reálná fotografie provedené fasciotomie bérce [50]

3.2 Současné možnosti v diagnostice kompartment syndromu

Včasné stanovení diagnózy je základem terapeutického úspěchu. Existuje šest hlavních bodů, které vedou ke včasné a správné diagnóze:

- Trvalé povědomí možnosti vzniku této závažné komplikace
- Přítomnost možného etiologického faktoru
- Pečlivé sledování pacienta
- Klinická symptomatologie – stěžejní diagnostické vodítko
- Pomocná vyšetření (oxymetrie, laboratorní vyšetření apod.)
- Permanentní monitorace intrafasciálních tlaků (výjimečně jednorázová monitorace tlaků v IP)

[4]

Možnosti diagnostiky zahrnují vývoj specifických klinických příznaků, které doprovází vznik CS. Problém nastává u pacientů, kteří jsou v bezvědomí a nejsou schopni s lékaři komunikovat. Pokud lékaři nemají o diagnóze pochybnosti, přistupuje se k fasciotomii. V opačném případě se přistupuje k měření tlaků v IP, většinou invazivními metodami s použitím tlakových monitorů například tzv. strykeru. Mezi neinvazivní metody patří ultrasonografie, infračervená spektroskopie, měření změny pH a další. Tyto neinvazivní formy měření se zatím postupně vyvíjejí a testují.[11], [5], [2]

3.2.1 Klinické symptomy

Pro kompartment syndrom jsou typickými příznaky bolest, parestézie, paralýza, slabé pulzace v končetině, bledost a otok.[11]

Vliv na stanovení a přesnost diagnózy, při výskytu výše zmíněných klinických symptomů je shrnut v následující *tabulce 2*.

Tabulka 2: Vliv symptomů na vznik CS [51]

Symptom	Popis	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Pozitivní prediktivní hodnota [%]	Negativní prediktivní hodnota [%]
Bolest	Bolest nepřiměřená ke zranění	19	97	14	98
Bolest při pasivním protažení	Zvýšená bolest při protažení postižených svalů	19	97	14	98
Senzorické změny	Parestézie nebo necitlivost	13	98	15	98
Motorické změny	Slabost nebo paralýza postižených svalových skupin	13	97	11	98
Otok	Hodnocení palpačním vyšetřením	54	76	70	63

Bolest je klasicky první známkou vývoje akutního kompartment syndromu. Je ischemické povahy a často je nepřiměřená klinické situaci. Z *tabulky 2* je zřejmé, že senzitivita projevujícího se

symptomu bolesti je velice nízká, zatímco jeho specifita je naopak vysoká. To může mít negativní vliv na posouzení přítomnosti CS, zejména vysoký výskyt falešně negativních diagnóz.[51]

Parestézie a hypoestézie se mohou objevit v oblasti nervů, které procházejí postiženou oblastí. Obvykle se jedná o prvotní příznaky ischemie, ačkoli porucha funkce může být způsobena poškozením nervu následkem úrazu. Stejně jako v případě bolesti se nejedná o příliš užitečný symptom ke stanovení správné diagnózy, což dokládají hodnoty uvedené v *tabulce 2*. Paralýza svalu je rozpoznána jako pozdní příznak a má stejně nízkou citlivost jako předchozí symptomy, pravděpodobně kvůli obtížné interpretaci základní příčiny slabosti, která by mohla být inhibovaná bolestí, přímým poškozením svalu nebo souviset s poškozením nervů.[51]

Otok může být známkou výskytu akutního kompartment syndromu. Jedná se o velice subjektivní symptom z hlediska posouzení velikosti otoku lékařem na základě palpačního vyšetření.[51]

Ostatní zmíněné symptomy jako je ztráta pulzu v perifériích a bledost končetin by neměly být použity k diagnostikování ACS. Tyto symptomy jsou přítomny pouze při závažném arteriálním poškození nebo nemoci, kdy je indikována arteriografie nebo ve velmi pozdních stádiích ACS, kdy je amputace nevyhnutelná.[14]

Z hlediska diagnostiky je velice výhodné, pokud se objeví několik symptomů souběžně. Tento fakt zvyšuje přesnost diagnostikování ACS. Pokud jsou přítomny dva klinické nálezy (neúměrná bolest a bolest při pasivním protažení postižených svalů), pravděpodobnost přítomnosti ACS je přibližně 25 %. Pokud jsou přítomny tři klinické nálezy, pravděpodobnost přítomnosti ACS se zvýší až nad 90 %. Třetím klinickým nálezem bývá paralýza. Podmínkou dosažení přesné klinické diagnózy je nutnost vyčkat na další fáze průběhu onemocnění, což zvyšuje riziko trvalé invalidity pacienta. Zde je patrná nevýhoda diagnózy, založené pouze na klinických příznacích, protože prodlužuje fázi diagnostiky onemocnění a oddaluje samotnou léčbu.[14]

3.2.2 Měření tlaků v IP

Whitesides a kolektiv ve své studii pocházející z roku 1975 poukazují na souvislost vzniku kompartment syndromu ve spojitosti se zvýšeným tlakem v IP. Od této doby se zařízení pro monitorování tlaků v IP vyvíjely a byly popsány některé techniky měření jako je například metoda podle Whitesideho, která slouží k jednorázovému měření tlaků pomocí injekčních kanyl.[11], [4]

Fyziologický intra-kompartmentální tlak se u dospělých pohybuje v rozmezí 8 – 10 mmHg, u dětí je mírně vyšší a to 10 – 15 mmHg. Nejvyšší tlak se dle studií nachází ve vzdálenosti 5 cm od místa zlomeniny, z čehož plynou doporučení pro místa měření tlaku v IP. Měření by mělo probíhat ve všech postižených kompartmentech v okolí zlomeniny, nejdále ovšem 5 cm v jejím okolí.[11]

Permanentní monitorace tlaků v IP je suverénní diagnostickou metodou, zejména ve spojení s klinickými nálezy vypovídají o diagnóze a správném terapeutickém postupu a především zavádí do hodnocení míru objektivity. Výhodou této metody je použitelnost u pacientů s poruchou vědomí (polytrauma, alkoholová intoxikace) nebo u dětí. Tito pacienti nejsou schopni spolupracovat při klinickém vyšetření a měření IP tlaků je proto nezbytné. Další výhodou permanentní monitorace je možnost sledovat změny tlaku v průběhu léčby.[15], [4]

Mezní hodnoty IP tlaku

Hlavním problémem indikace včasného provedení dekompresní fasciotomie je stanovení kritické hodnoty kompartmentového tlaku, protože autoři se ve stanovení kritické hodnoty tlaku indikující fasciotomii odlišují.

Tabulka 3: Kritické hodnoty IP tlaku pro indikaci dekompresní fasciotomie dle jednotlivých autorů

Autor	Kritická hodnota IP tlaku [mmHg]
Mubarak a kol., Blick a kol., Hargens a kol.[15]	ICP > 30
Matsen a kolektiv [16]	ICP > 45
Whitesides a kol., McQueen a Court-Brown [15]	Diferenciální tlak (ΔP) diastolic. tlak - ICP < 30

Počáteční studie ukázaly jako kritické absolutní hodnoty tlaků 30 nebo 45 mmHg. Nižší hladina 30 mmHg byla uváděna častěji, protože studie na zvířatech ukázaly, že při této hodnotě dochází ke kolapsu krevního zásobení svalu a k maximálnímu roztažení fascie.[5]

Absolutní hodnota tlaku se ukázala jako nespolehlivé kritérium pro indikaci fasciotomie, vzhledem k odlišnosti průměrných a diastolických tlaků. Závisí spíše na gradientu perfúze v kompartmentu než na hodnotách absolutního tlaku v kompartmentu.[11]

Studie provedená McQueenem a kolektivem poukazuje při diagnostice CS na použití tzv. diferenciálního tlaku ΔP , který se má pohybovat pod hranicí 30 mmHg. Po překročení této hranice je diagnostikován rozvoj ACS a přistupuje se k fasciotomii. Lze jej spočítat jako rozdíl diastolického a kompartmentového tlaku. U dětí se pro výpočet prahové hodnoty používá místo diastolického tlaku střední arteriální tlak. S takto stanoveným prahovým tlakem dosáhla tato studie úspěšných výsledků při diagnostice kompartment syndromu. Je nutné podotknout, že i přes přesnost a dosažení kvalitních výsledků, se nejedná o standardizovanou kritickou hranici tlaku pro diagnostiku CS.[14]

3.2.2.1 Invazivní měření IP tlaku

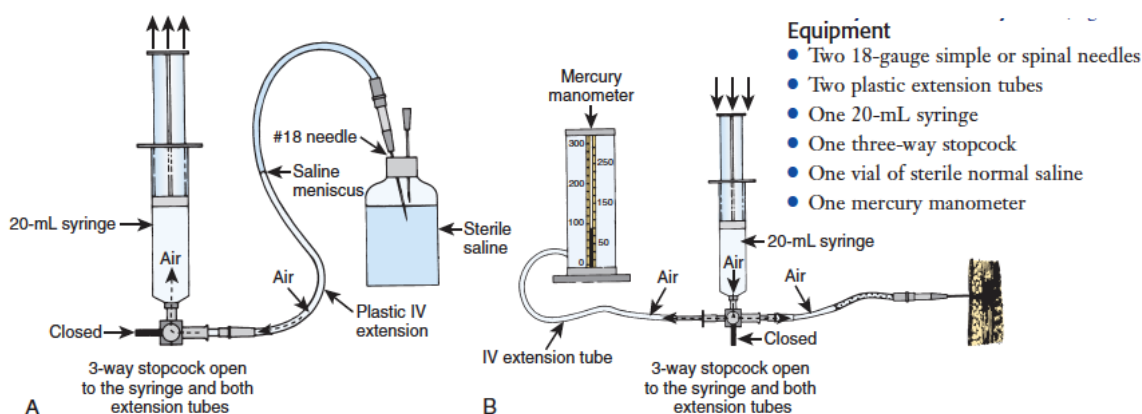
V současné době se kompartmentový tlak měří převážně invazivními technikami, s potřebou aplikace jehly nebo kanyly do kompartmentového prostoru. Zásadní nevýhodou těchto technik jsou případné komplikace v podobě vzniku infekce v místě punkce, vzniku hematomu nebo krvácení v místě aplikace nebo zvýšení intrakardiálního tlaku po aplikaci měřicí kapaliny a samozřejmě vyšší zátěži pacienta oproti možným neinvazivním možnostem měření. Přesto jsou invazivní metody v současné době považovány za zlatý standard v diagnostice CS.[52]

Infuzní metody

Whitesideho metoda byla první možností pro měření kompartmentového tlaku. Jedná se o injekční jehlu zavedenou do kompartmentu, injekční stříkačku naplněnou vzduchem a částečně naplněnou hadičku fyziologickým roztokem a tonometr. Vše je spojeno pomocí trojcestného ventilu. Stříkačka se vzduchem se postupně stlačuje, což způsobí vyrovnání tlaku v měřicím systému.

Při vyrovnání tlaku fyziologického roztoku s tlakem vyvinutým stříkačkou, se odečte tlak na stupnici tonometru, který je přímo úměrný kompartmentovému tlaku.[4], [14]

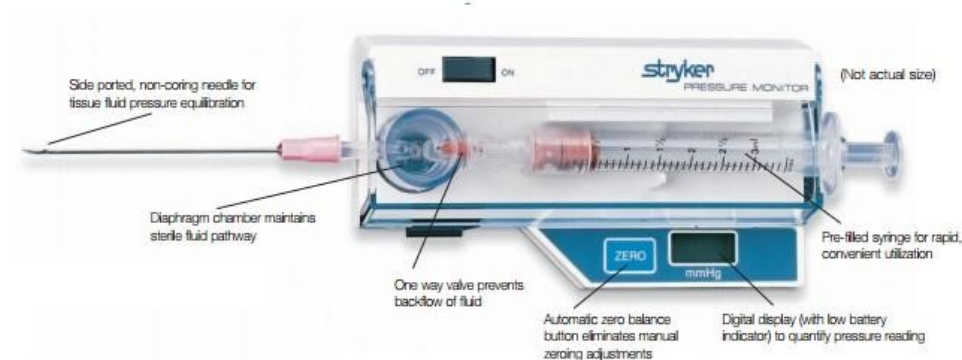
Touto metodou ovšem nebylo možné provádět kontinuální měření tlaku. To bylo umožněno až po modifikaci této metody, kdy bylo možné provést infuzi malého množství fyziologického roztoku. Postupně se zvyšuje tlak v kanyle, až překoná vnitřní tlak uvnitř IP. V tomto momentu se odečte tlak na stupnici tonometru.[4], [17]



Obrázek 8: Modifikovaná Whitesideho metoda měření IP tlaku [53]

Stryker monitor

Jedná se o modernější přístroj, který umožňuje okamžité i kontinuální měření. Oproti předchozímu způsobu je měření s tímto přístrojem přesnější a jednodušší, ovšem základní princip metody zůstává zachován. Přístroj se skládá z elektronické části vybavené digitálním displejem, na kterém se zobrazuje výsledek měření s tlačítky pro zapnutí a kalibraci, dále z injekční stříkačky předplněné fyziologickým roztokem, membránové komory a injekční stříkačky s postranními otvory. Po zapnutí a kalibraci přístroje se jehla punktuje do postiženého kompartmentu a dochází k aplikaci 0,1 – 0,3 ml roztoku do kompartmentu. Při měření je důležité, aby nedošlo k pohybu přístroje nebo k rychlému vstřikování roztoku do kompartmentu, což by negativně ovlivnilo výsledek měření.[18]



Obrázek 9: Tlakový monitor Stryker [54]

Digitální měřič IP tlaku Compass

Jde o kompaktní, jednorázový, přesný přístroj k měření kompartmentového tlaku. Princip funkce je obdobný jako u stryker monitoru. Do přístroje se před započítím měření vloží injekční stříkačka s fyziologickým roztokem a z druhé strany přístroje se připevní jehla, která se zavádí do kompartmentu. Výrobce udávaný rozsah měření se pohybuje od -199 až +999 mmHg s přesností měření ± 2 mmHg, pokud se měřená hodnota pohybuje pod 50 mmHg.[55]

Digitální měřič IP tlaku Compass je zobrazen na následujícím obrázku.



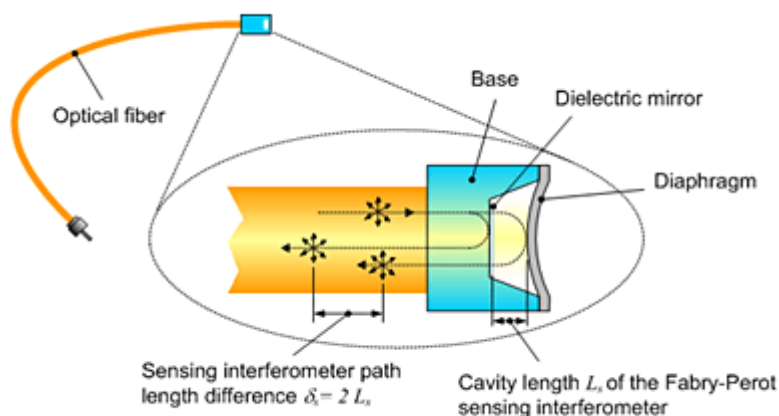
Obrázek 10: Digitální měřič ICP Compass [56]

Optické snímače

Tenzometry s tlakovým katetrem s optickými vlákny se v dnešní době používají pro sledování intravaskulárního krevního tlaku, sledování kompartmentových tlaků, monitorování intrakraniálního tlaku nebo měření nitroočního tlaku.[19]

Jedná se o katetr, na jehož konci je umístěna optická membrána. Katetrem prochází dvě optická vlákna. První vlákno slouží pro emitování světla na membránu senzoru, která je v přímém kontaktu s vyšetřovaným místem (kompartmentem). Dopadající světlo se na membráně odráží v závislosti působení kompartmentového tlaku na membránu a její deformaci. Odražené světlo se šíří zpět druhým optickým vláknem a je vyhodnoceno v měřící jednotce.[19], [20]

Princip optického snímače je znázorněn na následujícím obrázku 11.



Obrázek 11: Princip funkce optického snímače [57]

Tímto typem senzorů lze dosáhnout jednoho z dnešních trendů biomedicínské vědy, spočívajícím v dlouhodobé diagnostice s minimálně invazivním zařízením s dlouhodobou stabilitou záznamu. Tyto předpoklady jsou splněny hlavně díky malým rozměrům optických senzorů a jejich dlouhodobé stabilitě. Drift nuly se u prototypů typicky pohybuje okolo 1 mmHg za hodinu, u komerčních senzorů okolo 3 mmHg za 28 dnů. Mezi další výhody patří vysoká elasticita, odolnost vůči elektromagnetickému rušení, s tím související kompatibilita s MRI a díky nízké ceně snadná dostupnost.[19]

Jedno ze současně dostupných zařízení pro optické měření tlaku od firmy Samba sensors je zobrazeno na *obrázku 12*.



Obrázek 12: Zařízení pro invazivní optické měření ICP [58]

Polovodičové - piezoelektrické snímače

V současné době je moderním postupem měření pomocí tlakových transducerů (piezoelektrických čidel). Ty jsou miniinvazivní cestou zavedeny do příslušného IP. Velkou výhodou je možnost permanentní monitorace tlaků.[4]

Polovodičový senzor je tenká ohebná membrána, vyrobená z křemíkového polovodiče, která je umístěna na špičce katetru. Působením tlaku v kompartmentu dochází k deformaci křemíkové membrány a v důsledku toho ke změně jejího měrného elektrického odporu (piezorezistivní jev). [19]

V praxi je tato změna nejúčinněji měřena pomocí Wheatstoneova můstku. Jedná se o elektrický obvod, který se používá pro měření odporů a malých změn odporů.[21], [59]

Typickým přístrojem spadajícím do této kategorie invazivních měřidel ICP je například měřidlo od firmy SYNTHES (obrázek 13).



Obrázek 13: Piezoelektrický měřič tlaku [60]

Monitorace změny intramuskulárního pH v závislosti na změnách pCO₂ a pO₂ v kompartmentu

Ve studii, kterou provedl Miller a kolektiv se autoři věnují vlivu ischemie, což je doprovodný stav kompartment syndromu, na změnu pCO₂ a pO₂ v předním tibiálním kompartmentu na dolní končetině primátů při zaškrcení speciálním nafukovacím turniketem. Čímž simulovali projevy CS. Koncentrace plynů byla měřena in vivo pomocí hmotnostní spektrometrie, která dokáže měřit přímo respirační, krevní nebo tkáňové plyny. Přístroj z tkáně odebíral vzorky plynů přes difuzní teflonovou membránu. Difuzní membrána byla zabudována do teflonově pokovené kanyly z nerezové oceli, která přenáší odebraný vzorek plynu do hmotnostního spektrometru pomocí vakuového systému, zabudovaného do přístroje. Plyny jsou kvantitativně analyzovány podle jejich molekulových hmotností a skutečné parciální tlaky jsou zobrazovány digitálně na displeji. Doba odezvy je u tohoto přístroje pomalejší než u polarografických elektrod, ale naopak rychlejší než u tkáňových tonometrů. Zaznamenávání parciálních tlaků uvnitř kompartmentu probíhalo poté, co se jejich hodnoty ustálily na dobu nejméně 25 minut. Zároveň byl z končetiny odebrán vzorek krve pro analýzu krevních plynů a změny pH.[22]

Výsledky prokázaly, že tlak uvnitř kompartmentu ovlivňuje hladiny parciálních tlaků a hodnotu pH. Hodnota pCO₂ se s dobou trvající ischemie a zvyšujícím se ICP zvyšovala z počáteční hodnoty 33 ± 1 mmHg na hodnotu 51 ± 2 mmHg. Hodnota pO₂ se s dobou trvající ischemie a zvyšujícím se ICP naopak snižovala z počáteční hodnoty 65 ± 2 mmHg na hodnotu 23 ± 2 mmHg. Zároveň z krevní analýzy vyplývá, že se zvyšujícím se ICP klesá hodnota pH. Počáteční hodnota pH byla 7,426 a na konci měření 7,207.[22]

Podobnou studii provedl Nicholas a kolektiv. Zde probíhalo opět testování na zvířecích modelech, konkrétně na končetinách králíků. K měření parciálních tlaků uvnitř kompartmentu použili autoři stejný systém, jako v předešlé studii. Tlak uvnitř kompartmentu byl regulován pomocí nafukovacího balónku, který byl zaveden do končetiny. Opačná končetina byla použita jako kontrolní. Hodnoty parciálních tlaků a hodnoty pH byly získány při hodnotách ICP 10, 30, 50, 70 mmHg. Zvířecí modely byly rozděleny do dvou skupin. První skupina byla vystavena tlaku ICP v rozmezí 10 až 30 mmHg, druhá skupina hodnotám 50 až 70 mmHg. U skupiny s nižším ICP byl pokles pO_2 pomalejší a nižší, než u skupiny s vyššími kompartmentovými tlaky. Konkrétně parciální tlak pO_2 pokles z hodnoty $23,0 \pm 2$ mmHg na hodnotu $13,3 \pm 3$ mmHg po šestihodinovém sledování. U druhé skupiny, kde byl aplikován vyšší ICP, byl pokles pO_2 strmější a již po hodině poklesla hodnota pO_2 z $25,6 \pm 2$ mmHg na hodnotu $13,0 \pm 2$ mmHg. Po šesti hodinách byla konečná hodnota pO_2 $11,2 \pm 2$ mmHg. Naopak hodnoty pCO_2 se u obou skupin zvyšovaly u první skupiny z hodnoty $30,3 \pm 1$ mmHg na hodnotu 35,7 mmHg a u druhé skupiny byla změna opět větší a to z hodnoty $22,2 \pm 2$ mmHg na hodnotu $32,9 \pm 2$ mmHg po šestihodinovém měření. Počáteční hodnota pH byla u obou skupin stejná a to 7,27. U skupiny, kde byly testovány nižší ICP hodnota pH poklesla na 7,35 a u druhé skupiny byl pokles větší, konkrétně na hodnotu 7,27 po šestihodinovém sledování.[23]

Dr. Doro ve svých výzkumech na psech uvádí, že hodnota pH je přesným biomakerem pro diagnostiku ACS. Ve svém výzkumu došel k závěrům, že hodnota pH může v kompartmentu klesnout až na hodnotu 7,1, což může být pro člověka smrtelné. Na základě jeho studií byla snaha univerzity Wisconsin vyvinout nový měřicí prostředek, pomocí kterého lze sledovat pH uvnitř kompartmentu. Byl vyvinut senzor, který je součástí katetru a po vpichu do kompartmentu jím lze měřit přímo pH. Pro případné použití v praxi je tento přístroj se senzorem nutné otestovat na lidských pacientech.[61]

Další studii provedl v roce 2013 Johnstone a kolektiv. Této studie se zúčastnilo 51 pacientů. U pacientů byla měřena změna intramuskulárního pH a zároveň byl ICP měřen standartní invazivní metodou, aby bylo možné porovnat obě metody mezi sebou. V této studii bylo prokázáno, že intramuskulární pH mělo větší a přesnější vypovídající hodnotu pro diagnostiku ACS, než klasické měření ICP. Při senzitivitě 95 % byla specifita absolutního tlaku nad 30 mmHg na pouhých 30 %. Při stejné senzitivitě intramuskulární pH s hodnotou 6,38, dosáhlo specifity 80 %.[24]

3.2.2.2 Neinvazivní měření IP tlaku

Vzhledem k nevýhodám invazivního měření, včetně rizik, které jsou s tímto přístupem spojeny, byla již od počátku snaha o vývoj přístroje, který bude ICP měřit neinvazivní metodou. Zvýšení intrakompartmentálního tlaku způsobuje změnu tvrdosti tkáně a mimo jiné dochází také k omezení okysličování tkáně kompartmentu a s tím spojené zvýšení zánětlivých biomarkerů. Vývoj neinvazivních přístrojů je založen na nalezení vhodné veličiny, kterou bude možné převést na hodnotu ICP. Následující rešerše je zaměřena na neinvazivní techniky, které doposud podléhají vývoji, ale i na metody, u kterých se zkoumá jejich přesnost v porovnání se zlatým standardem, za který je považováno invazivní měření ICP, například pomocí strykeru.

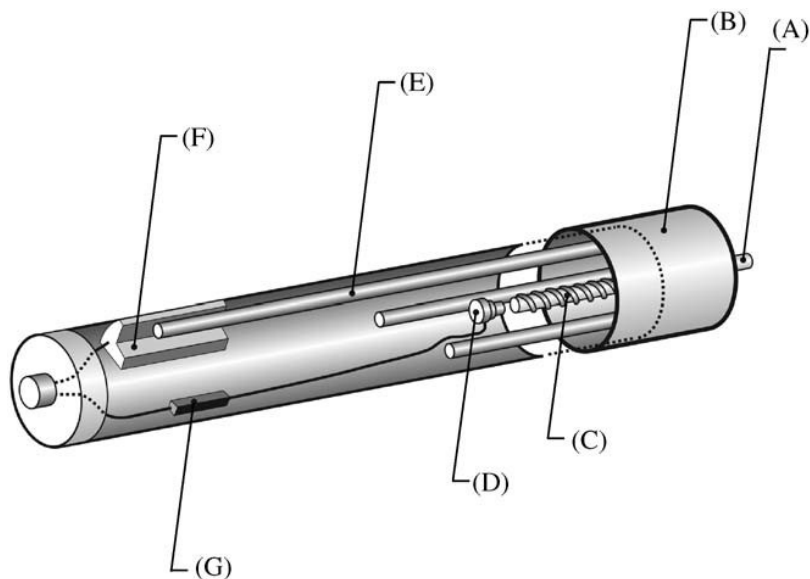
Vyšetření tvrdosti tkáně

Metoda kvantitativního měření tvrdosti tkáně vychází z předpokladu, že zvýšený intersticiální tlak uvnitř kompartmentu ovlivňuje okolní struktury a to tak, že zvětšují svůj objem. Důsledkem toho dochází ke změnám tvrdosti tkáně v postiženém místě. Průkopníkem této techniky byl Steinberg, který roku 1994 vynalezl první generaci přístroje pro kvantitativní stanovení tvrdosti tkáně nazývané EBI. Přístroj testoval na psech a následně na několika pacientech. Výsledky studie prokázaly vysokou korelaci naměřených hodnot ICP s hodnotami naměřenými klasickým invazivním způsobem. Vzhledem k pozitivním výsledkům předchozí Steinberg v roce 2004 patentoval zařízení NCSE (Noninvasive Compartment Syndrome Evaluator).[25], [62]

Zařízení NCSE je sestaveno z indentační sondy o průměru 5 mm, která je posuvná a její poloha se mění v závislosti vyvíjeného tlaku na tkáň. Sonda je obklopena pohyblivou destičkou s rozměrem 4,2 cm, která je připevněna k pružině a není mechanicky závislá na indentační sondě. Pružina slouží pro udržení destičky ve stejné rovině se sondou, dokud není zařízení aplikováno na končetinu. Síla na sondě je transdukována přes zátěžový článek. Pohyb destičky je měřen pomocí optického kodéru, který je propojen s nosným sloupcem. Zařízení NCSE je zobrazeno na *obrázku 14*. [25]

Samotné měření je zahájeno přiložením přístroje na končetinu a následným vyvíjením tlaku proti měřenému kompartmentu. Poté, co aplikovaný tlak na zařízení dosáhne hodnoty 25 g, dochází ke spuštění záznamu dat, konkrétně aplikovaného tlaku zařízením na kompartment a indentační hloubku sondy. Tento záznam dat trvá 3 sekundy. Studie, kde bylo použito toto zařízení, se zúčastnilo celkově 18 pacientů. Pro objektivizaci výsledků byl ICP měřen také invazivní metodou za použití strykeru. Studie poukazuje na silnou lineární závislost mezi kompartmentovým tlakem a tvrdostí tkáně (korelační koeficient 0,84, $P < 0,0001$). [25]

Zařízení NCSE pro vyšetření tvrdosti tkáně je znázorněno na následujícím obrázku.



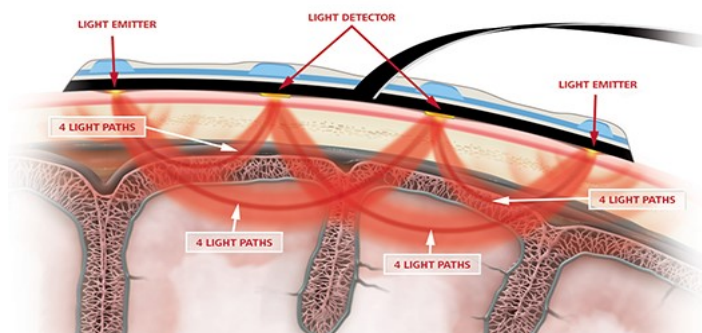
Obrázek 14: Zařízení NCSE: A - indentační sonda, B - pohyblivá destička, C - pružina, D, G -zátěžový článek, F - optický kodér, E - nosný sloupec [27]

Zařízení pro kvantitativní měření tvrdosti tkáně sestrojili a následně testovali také Joseph a kolektiv a Dickson a kolektiv. Joseph a kolektiv podrobili testování 189 dětí a 20 dospělých pacientů se zaměřením na kompartment syndrom předloktí. Při jejich měření byl výsledek ovlivněn především věkem dítěte, závislostí na kontrakci svalu během měření a místem, ve kterém byla tvrdost tkáně měřena. Výsledky poukazují na nelineární vztah mezi kompartmentovým tlakem a tvrdostí tkáně. Pro aplikaci tohoto přístroje v praxi autoři doporučují provedení dalších studií, které by potvrdily nebo vyvrátily jeho vhodnost při diagnostice CS. Obdobně tomu bylo i u zařízení, které testoval Dickinson a kolektiv. Při testování na 75 pacientech probíhalo měření tlaku zároveň invazivním způsobem. Kvantitativní měření tvrdosti tkáně vykázalo oproti invazivnímu způsobu měření nižší specifitu konkrétně 0,82 versus 0,96. Z důvodu nižší specifity této techniky autoři měření tvrdosti tkáně pro diagnostiku CS spíše zavrhuje a přiklání se ke zlatému standartu pro určení ICP.[26], [27]

Přístroje založené na principu měření tvrdosti tkáně vykazují jisté nedostatky při měření způsobené zejména pružností pokožky, tloušťkou tukové vrstvy pod kůží nebo v důsledku svalového zhuštění. Tyto faktory ohrožují přesnost a specifitu této diagnostické metody. I když kontinuální měření touto technikou nelze realizovat, je možné měření pro svoji neinvazivitu, jednoduchost a bezbolestnost častěji opakovat. Z dostupných studií je patrné, že je třeba tato zařízení dále zdokonalovat a testovat, aby bylo možné jejich reálné využití v praxi při diagnostice CS.

Spektroskopie blízké infračervené oblasti (NIRS)

Jedná se o metodu podobnou pulzní oxymetrii, která využívá Lambertův-Beerův zákon a je založena na principu reflexe světla blízké infračervené oblasti (750 – 1100 nm), v závislosti na množství oxygenovaného a deoxygenovaného hemoglobinu v tkáni přibližně 2 – 3 cm pod senzorem. Vysílač a přijímač záření se umísťují na rozdíl od pulzní oxymetrie vedle sebe a jejich vzdálenost určuje hloubku průniku infračerveného záření do tkáně. Hodnocení okysličení tkáně se provádí na základě porovnání koncentrace oxyhemoglobinu a deoxyhemoglobinu v žilní krvi a ve vyšetřované tkáni.[20], [28], [29]



Obrázek 15: NIRS [63]

Tato vyšetřovací metoda byla podrobena výzkumu na zvířecích modelech i lidských pacientech v mnoha studiích. Studie prokázaly, že ačkoliv některé klinické faktory vyžadují další výzkum, jedná se o slibnou neinvazivní metodu pro diagnostiku kompartment syndromu. Garr a kolektiv prokázali, že nasycení oxyhemoglobinu v kompartmentu silně souvisí s kompartmentovým a perfúzním tlakem. V dnešní době dostupná zařízení mohou být přínosem pro neinvazivní, kontinuální měření kompartmentových tlaků.[29], [30]

Hlavní výhoda metody spočívá v měření sníženého prokrvení tkání, což je hlavní následek kompartment syndromu. Navíc se jedná o neinvazivní metodu, která lze použít pro kontinuální měření. Nevýhody NIRS vyplývají zejména z propustnosti infračerveného záření přes kůži do tkáně. Světlo proniká přibližně do hloubky 3 cm a z tohoto důvodu mohou nastat problémy v měření hlubších kompartmentů. Při měření se mohou vyskytnout další zkreslení. Tato zkreslení mohou být zapříčiněna globálním snížením okysličení tkání a rozdílnou anatomii končetin pacientů. Měření může být navíc ovlivněno látkami, které mohou absorbovat nebo odrážet záření. Mezi tyto látky patří například kožní pigment. Vzhledem k těmto nevýhodám je doporučeno měřit zároveň i jinou část těla, ideálně stejný kompartment na opačné končetině, čímž je možné eliminovat výše zmíněné faktory, které mohou zkreslovat měření. Vliv kožního pigmentu je minimalizován také použitím většího počtu vlnových délek infračerveného záření.[31], [32], [29], [63]

V důsledku zranění končetiny, což může být například zlomenina, dochází ve zraněném místě k projevům hyperémie, při níž se zvyšuje hodnota saturace kyslíkem. Vznik kompartment syndromu vyvolává pokles lokální saturace rSO_2 . Z čehož vyplývá, že kompartment syndrom může snížit saturaci, i když se může hodnota saturace po tomto poklesu shodovat se saturací v kontrolním kompartmentu. Z tohoto důvodu je nutné, aby byla lokální saturace monitorována kontinuálně a tento projev nástupu kompartment syndromu mohl být zaznamenán.[29], [63]



Obrázek 16: Přístroj technologie NIRS pro měření ICP [63]

Ultrasonografie

Obecně se jedná o lékařskou zobrazovací metodu, která využívá mechanického vlnění o frekvenci větší než 20 kHz. Pro diagnostiku kompartment syndromu existují dva způsoby využití, které jsou popsány níže.

- **Kompresní ultrasonografie**

Tato neinvazivní technika umožňuje kvalitativní vizualizaci a kvantitativní měření mechanických vlastností tkání. Bloch a kolektiv ve své studii na živých zvířecích modelech prokázali korelaci mezi ICP měřeným kompresní sonografií a invazivní metodou.[33]

Zvyšování tlaku uvnitř proximální části předního tibiálního kompartmentu bylo uměle vyvoláno v prasečí noze s pomocí katetru a Seldingerovy techniky. Intrakompartmentový tlak byl postupně zvyšován od úrovně 20 mmHg až po 40 mmHg. Do tohoto kompartmentu byl následně zaveden katetr pro referenční měření tlaku. Pro odhad tlaku uvnitř kompartmentu byl měřen poměr elasticity ER. K měření autoři použili lineární UZV sondu (5,5 – 10 MHz). Měření bylo provedeno jak s působením vnějšího tlaku, tak bez něj. Vnější působení tlaku sondy na kompartment snímal systém Veinpress, což je průsvitná silikonová membrána připojená k tlakoměru. Tento systém je uchycen na UZV sondě, jak je znázorněno na *obrázku 17*. Výsledný poměr elasticity ER byl stanoven jako poměr průměrů kompartmentů s aplikací vnějšího tlaku a bez něj. Výsledky měření poukázaly na lineární závislost mezi IP tlakem a ER. Je ovšem nutné podrobit tuto metodu testování na lidských subjektech.[33]

Ultrazvuková sonda s tlakovým snímačem pro diagnostiku kompartment syndromu je znázorněna na obrázku níže.



Obrázek 17:UZV sonda s připevněným snímačem tlaku [33]

- **Ultrazvuk s pulzním fázovým závěsem (PPLL)**

Zařízení PPLL je ultrazvukový přístroj s nízkým výkonem (2 MHz), který je určen k detekci a nepřetržitému monitorování submikrometrických posunů mezi ultrazvukovým snímačem na povrchu pokožky a jakoukoli subdermální tkání, která dokáže odrážet ultrazvukový impuls. K tomu tato metoda využívá pulzní uzamčenou fázovou smyčku (pulse phase locked loop). K posunům stěn fascií dochází v důsledku objemové expanze svalových kompartmentů a souvisejí se změnami v intramuskulárním tlaku. Každá arteriální pulsace způsobí dočasné roztažení kompartmentu. Fasciální posuny v kompartmentech se zvýšeným intramuskulárním tlakem jsou významně větší než posuny fascií v nepostižených kompartmentech s výchozím perfuzním tlakem.[34], [35], [36], [31]

PPLL je schopné se zaměřit na specifický odraz se specifickou hloubkou uvnitř tkáně. Zařízení PPLL porovnává fázi vyslaného impulsu s přijatým (odraženým) ultrazvukovým impulsem. Fáze, respektive frekvence odraženého impulsu se mění při pohybu tkáně k sondě nebo od ní.[34]

Na základě provedené studie, kterou provedla Lee a kolektiv, lze považovat tuto techniku pro diagnostiku kompartment syndromu jako patrně lepší diagnostický prediktor než je technologie NIRS. Diagnostika s PPLL poskytuje oproti technologii NIRS lepší specifitu a citlivost.[31]

Ultrazvuková elastografie

Ultrazvuková elastografie je jednou z novějších, rychle se rozvíjejících zobrazovacích metod. Začátek vývoje je datován v devadesátých letech dvacátého století a její vývoj byl urychlen s nástupem přístrojů, které umožňovaly zobrazovat elasticitu v reálném čase a dále s nástupem elastografie stříhové vlny (shear wave elastography, SWE), umožňující kvantitativní měření tuhosti tkáně.[38]

Elastografie umožňuje neinvazivní stanovení tuhosti tkání měřením změny jejich velikosti způsobené mechanickou deformací. Jedná se o přístrojovou obdobu palpačního vyšetření s hlavní

výhodou reprodukovatelného zobrazení a kvantifikace. Elastografie je založena na faktu, že patologicky poškozené tkáně mají většinou větší tuhost, než tkáně normální. Vzhledem k povaze této metody by se mohlo jednat o vhodnou metodu pro diagnostiku kompartment syndromu.[38], [39]

Jednu ze studií, která se zabývala použitím elastografie se střížnou vlnou, jako možné vyšetřovací metody pro diagnostiku kompartment syndromu, provedl Koo a kolektiv. Autoři se zaměřili na měření elastických parametrů svalu tibialis anterior. Výběr této lokalizace souvisí s nejčastějším anatomickým výskytem kompartment syndromu. Podle výsledků této studie by bylo možné použít tuto metodu k neinvazivní diagnostice.[40]

Magnetická rezonance

Také v případě této zobrazovací metody došlo v některých studiích na zkoumání jejího použití pro diagnostiku kompartment syndromu. Rominger a kolektiv poukazuje na využití této zobrazovací metody spíše pro zachycení manifestace kompartment syndromu, tedy fáze, kdy dochází k neurologickým a funkčním změnám tkáně, pro hodnocení následků syndromu a pro přesnější plánování fasciotomií. Počáteční fáze kompartment syndromu u pacientů v této studii nebyly oproti kontrolní skupině bez přítomnosti syndromu ze snímků z magnetické rezonance pozorovatelné.[37]

Scintigrafie

Scintigrafie je základní vyšetřovací metoda v nukleární medicíně. Principem je podání radiofarmaka a následně sledování jeho rozmístění v těle. Jako radiofarmakum se používají látky s krátkým poločasem rozpadu, jako je například technecium, thalium, krypton, a další. Podaná radiofarmaka se po vpravení do těla hromadí v některých místech chorobných procesů.[64]

V souvislosti s diagnostikou kompartment syndromu studie prokazují, že je tato technika určena spíše pro chronickou formu kompartment syndromu. Hlavní výhodou scintigrafie je možnost zobrazit všechny kompartmenty nohy najednou. Pro akutní formu syndromu není vhodná vzhledem k dlouhé době přípravy pacienta a absence možnosti kontinuálního měření. V běžné praxi se tento neinvazivní způsob diagnostiky spíše nepoužívá.[41], [42]

Měření změny bioimpedance

Bioimpedanční analýza je neinvazivní, nízkonákladový a v lékařské praxi běžně používaný přístup pro měření tělesného složení a hodnocení klinického stavu pacienta. Elektrické vlastnosti biologických tkání lze v současné době kategorizovat na základě zdroje elektrické energie, tj. aktivní a pasivní odezvy. Aktivní reakce nastává, pokud biologická tkáň produkuje elektrický signál z iontových aktivit v buňkách. Do této kategorie patří signály EKG a EEG. V případě bioimpedance se jedná o druhou kategorii, kdy je tkáň stimulována externím zdrojem elektrického proudu. Používané proudy se pohybují v řádech desetin miliampér o frekvenci s rozsahem 100 Hz až 1 MHz. Bioimpedance je definována jako schopnost biologické tkáně bránit se elektrickému proudu. Impedance tkáně závisí na jejím objemu, prokrvení a druhu.[43], [44]

V souvislosti s kompartment syndromem je tato metoda méně prozkoumána. Existuje jen několik málo studií, které se zabývají možným použitím měření bioimpedance k diagnostice kompartment syndromu. Jednu ze zmíněných studií provedl Tonkovic a kolektiv, který použil technologii MFBIA, což je bipolární multifrekvenční analýza. Této studii se zúčastnilo celkově 29 pacientů s různým stupněm projevů kompartment syndromu na jedné končetině. Tito pacienti byli

rozčlenění do tří skupin dle stupně projevu CS. Pro průkaznost naměřených výsledků byl kompartmentový tlak měřen zároveň wick katétrem. Výsledky studie poukázaly na rozdílnou impedanci mezi zdravou a poškozenou končetinou. U končetiny, která byla poškozena kompartment syndromem, byla impedance nižší. U skupiny pacientů s nejvyšším stupněm projevu CS se ICP mezi zdravou a poškozenou končetinou lišil o 18 mmHg a rozdíl impedance byl 346 Ω . Naopak skupina pacientů s nejnižším stupněm projevů syndromu měla rozdíl ICP mezi končetinami 1,2 mmHg a tomu odpovídal rozdíl impedance 29,9 Ω . [44]

V návaznosti na předchozí studii Tonkovic a kolektiv navrhli vlastní přístroj, kterým se pokusili měřit bioimpedanci končetin u pacientů s CS a u kontrolní skupiny osob. Funkčnost navrženého přístroje byla srovnána s komerčně dostupným přístrojem, který byl použit v minulé studii, konkrétně se jednalo o přístroj HP LCR-Meter 4284. Sestavený nový přístroj měl rozsah měřících frekvencí od 100 Hz do 1 MHz a byl schopný měřit bioimpedanci v rozmezí od 10 Ω do 20 k Ω a fázový úhel v rozsahu 0 až 60 stupňů. Z hlediska dosažených výsledků nový přístroj koreloval s hodnotami naměřenými komerčním přístrojem (koeficient korelace 0,96 u pacientů s kompartment syndromem a 0,98 u testovací skupiny osob). Lehce nižší korelaci výsledků u pacientů s CS autoři přikládají nedokonalé přilnavosti nebo umístění elektrod. Autoři uvádějí, že se tato neinvazivní metoda jeví jako slibná diagnostická metoda za účelem monitorování kompartment syndromu. [45]

Z bližšího prostudování výše zmíněných studií plynou některé nedostatky této metody. Hlavní nevýhodou této metody je nepoužitelnost u pacientů, kteří mají kompartment syndrom na obou končetinách. Vzhledem k tomu, že se porovnává rozdíl impedancí mezi končetinami, je nutné, aby měření probíhalo na zdravé i poškozené končetině. [44], [45]

Monitorace změny pH tkáně

Monitorace změny pH tkáně se nejčastěji monitoruje invazivní cestou. Lze se ovšem setkat i s neinvazivní technikou. Této diagnostické metodě se v současné době věnuje jen pár studií. Změnou pH v souvislosti s rozvojem kompartment syndromu se zabývala studie, kterou provedl Challa a kolektiv. K neinvazivní kontinuální monitoraci pH použili infračervený spektroskopický pH přístroj. Kompartment syndrom byl uměle simulován pomocí nafukovacího turniketu. Senzor byl umístěn nad střední částí svalu tibialis anterior, který patří do pravého, předního kompartmentu. Pro kontrolu naměřených hodnot bylo prováděno zároveň měření na opačné noze a současně byl ICP zjišťován pomocí NIRS. Studie vychází z metabolických procesů uvnitř tkáně při ischemii, která úzce souvisí s rozvojem CS. Akumulace kyseliny mléčné a oxidu uhličitého během svalové aktivity snižuje intersticiální pH. Klidová hodnota intersticiálního pH kostního svalstva se u člověka pohybuje okolo 7,38. Po intenzivním cvičení pH klesá na hodnotu 7,0427. Navíc je velikost poklesu pH lineárně spojena s intenzitou cvičení. Tato studie dokládá podobnou progresivní svalovou acidózu, protože pH se s rostoucím ICP snižuje. Pokles pH je v tomto případě vyvolán poklesem fosfokreatinu a zvýšením hladin anorganických fosfátů. Vedle poklesu fosfokreatinu vyvolaného ischemií při kompartment syndromu dochází k rychlému poklesu hladin adenosintrifosfátu. Což vysvětluje právě změnu pH tkáně. [46]

Výsledky studie prokazují, že se zvyšujícím se ICP dochází ke snížení mikrovaskulárního průtoku krve, okysličení tkáně a k významnému poklesu pH tkáně. Klinická významnost této studie

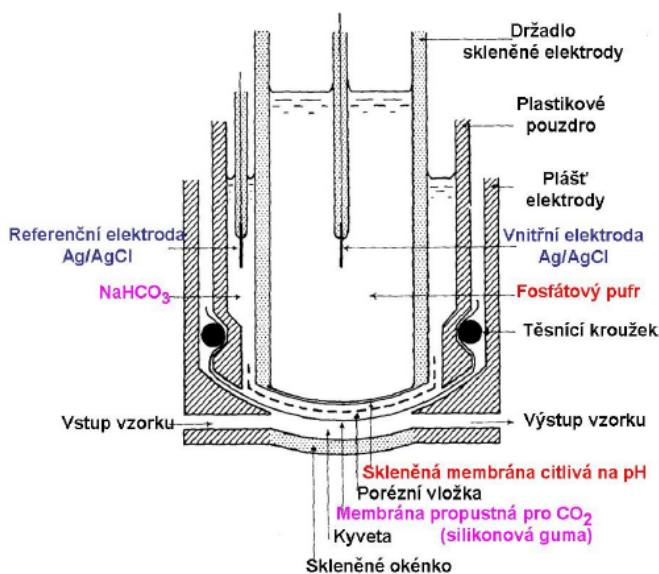
spočívá v identifikaci hemodynamických a metabolických parametrů, jako potencionálního neinvazivního diagnostického nástroje pro akutní kompartment syndrom.[46]

3.2.3 Neinvazivní elektrochemické monitorování projevů fyziologických tkání

V dostupné literatuře je neinvazivní elektrochemické měření projevů fyziologických tkání málo probádané téma. Ve své podstatě se většina elektrochemických měření provádí invazivní cestou. Tyto invazivní metody se využívají zejména při analýze krevních plynů a používají například Severinghausovu elektrodu schopnou stanovit parciální tlak $p\text{CO}_2$ ve tkáni z krevního vzorku a Clarkovu elektrodu, kterou lze měřit parciální tlak kyslíku $p\text{O}_2$ ze vzorku krve.

Severinghausova elektroda

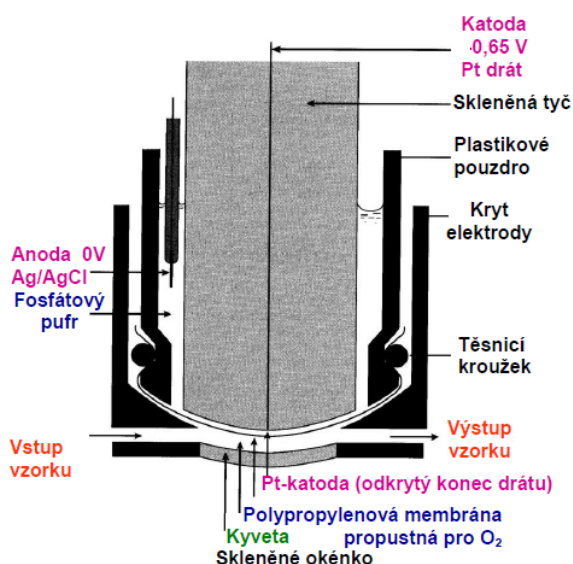
Tato elektroda se řadí mezi selektivní elektrody. Je naplněna roztokem hydrogenuhličitanu sodného, do kterého přes silikonovou nebo teflonovou membránu z krevního vzorku, který je podroben analýze, difunduje CO_2 a ve vnitřním elektrolytu elektrody se rozpouští. Při tomto procesu vzniká disociovaná kyselina uhličitá. Na základě koncentrace iontů H^+ se stanoví hodnota pH zabudovanou pH elektrodou. Potenciál této elektrody je měřen oproti referenční elektrodě, typicky argentchloridové (Ag/AgCl), která je ponořena v hydrogenuhličitanovém pufru. Naměřené hodnoty pH v elektrolytu odpovídají parciálnímu tlaku $p\text{CO}_2$ ve tkáni, z které byl odebrán vzorek krve.[82]



Obrázek 18: Konstrukce Severinghausovy elektrody [85]

Clarkova elektroda

Existují dva typy Clarkovy elektrody, jimiž je amperometrická a polarografická elektroda. Tyto elektrody jsou tvořeny anodou a katodou, které jsou ponořeny ve fosfátovém pufru. Katodu představuje platinový drátek o průměru 25 μm , který je kromě jeho špičky zataven v trubičce vyrobené ze skla. Anodu tvoří klasická argentchloridová elektroda. Na konci elektrody je polypropylenová nebo teflonová membrána, která je propustná pouze pro molekuly kyslíku. Na katodě je konstantní polarizační napětí 650 mV. Přes membránu difunduje kyslík ze vzorku krve a je redukován na katodě. Mezi katodou a anodou začne protékat elektrický proud, který je proporcionální k parciálnímu tlaku kyslíku v krvi $p\text{O}_2$. Teplota výrazným vlivem ovlivňuje reakci elektrody a lineární závislost mezi vytvářeným proudem a parciálním tlakem je zaručena pouze při stabilních teplotách elektrody s přesností 0,1 $^{\circ}\text{C}$. [82]



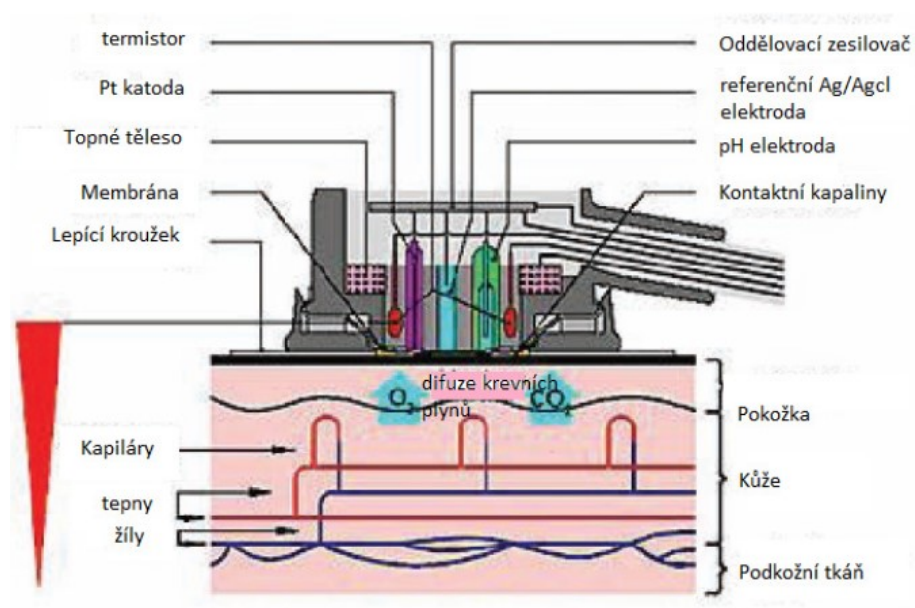
Obrázek 19: Konstrukce Clarkovy elektrody [85]

Tato elektroda se využívá při analýze krevních plynů a s úpravou semipermeabilní membrány nanesením enzymů ke stanovení glukózy v krvi. Existuje i její neinvazivní verze, která je schopna měřit prosakující O_2 na kůži.

Transkutánní Clarkova elektroda

Jedná se vlastně o Clarkovu polarografickou elektrodu. Neinvazivní měření kyslíku v tkáni touto elektrodou s sebou nese jisté nevýhody. Pro přesné určení zastoupení kyslíku ve tkáni je nutné dbát na správné přiložení elektrody na kůži. V případě, že elektroda není správně přiložena a její membrána je částečně v kontaktu s ovzduším, difunduje do elektrody nejen prosakující kyslík z kůže, ale i kyslík z ovzduší, což zkresluje naměřené výsledky. Další nevýhoda této metody souvisí s delší reakční dobou na změny nasycení krve kyslíkem. Tato doba je relativně dlouhá. Kyslík difunduje nejprve z tkáně přes kůži a následně difunduje přes membránu elektrody. Tento jev způsobuje značné zpoždění reakce elektrody. V praxi se proto tento princip měření $p\text{O}_2$ příliš nevyužívá a je využívána

spíše pulzní oxymetrie s velmi krátkou dobou odezvy. Stejně jako u klasického provedení Clarkovy elektrody i zde je nutné udržovat konstantní teplotu, proto je v anodě zabudován termostat, který udržuje místo měření při stálé teplotě 45°C, což umožňuje difuzi kyslíku skrz strum corneum. Před začátkem měření se na kůži musí nanést kapka destilované vody a na toto místo se přiloží elektroda s adhezivním kroužkem. Nejčastějším místem měření je kůže nad bicipsem. Výstupem z elektrody je digitální nebo analogový signál. Neinvazivní monitorování oxygenace transkutánní elektrodou dobře koreluje s P_aO_2 u hemodynamických stabilních pacientů. U hypovolemických pacientů reflektuje spíše srdeční výdej a dodávku kyslíku do tkání, protože dochází k hypoperfuzi kůže.[82], [83] [84]

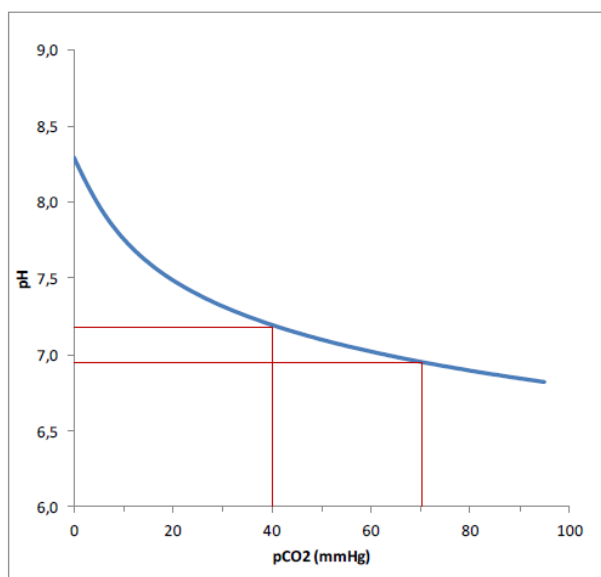


Obrázek 20: Konstrukce a princip transkutánní Clarkovy elektrody [82]

Z obdobného principu difuze plynu přes kůži jako u transkutánní Clarkovy elektrody vychází koncept této diplomové práce. V průběhu kompartment syndromu, kdy se zvyšuje intramuskulární tlak, dochází ke zvyšování parciálního tlaku pCO_2 a v souvislosti s tím se snižuje hodnota pH tkáně. Při tomto ději CO_2 difunduje přes kůži. Použitím vhodného selektivního senzoru by bylo možné zachytit difundující oxid uhličitý na kůži pacienta v místě postiženém kompartment syndromem a registrovat změnu hodnoty pH, respektive změnu parciálního tlaku uvnitř kompartmentu v závislosti na množství difundovaného CO_2 . Tato idea byla testována na modelovém systému a k ověření předpokladu byly využity ISFET pH senzory, které se jeví jako nejvhodnější řešení pro neinvazivní monitoraci průběhu kompartment syndromu.

3.2.4 Návrh elektrochemického měření k otestování elektrochemických senzorů pro neinvazivní diagnostiku kompartment syndromu

Dle studie provedené na makacích medvědech viz kapitola 3.2.2.1, bylo prokázáno, že při zaškrcení dolní končetiny v oblasti bérce, čímž je simulován kompartment syndrom, dochází ke změnám subkutánního $p\text{CO}_2$. Je možné předpokládat, že ischemie v souvislosti s kompartment syndromem u člověka způsobí obdobné změny v $p\text{CO}_2$. Ve studii byla ke stanovení $p\text{CO}_2$ tkáně použita Severinghausova elektroda, která obsahuje vnitřní elektrolyt tvořený roztokem hydrogenuhličitanu sodného s chloridem sodným. V tomto roztoku NaCl zajišťuje vyšší vodivost a stabilitu potenciálu, zatímco NaHCO_3 slouží ke zvýšení citlivosti elektrody na změny v koncentraci rozpuštěného CO_2 v elektrolytu. Obsah NaHCO_3 v elektrolytu je 0,01 M. V elektrolytu dochází ke změnám pH v závislosti na koncentraci CO_2 v měřeném krevním vzorku. Dle provedené studie na makacích lze předpokládat následující změnu pH elektrolytu v závislosti na změnách parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ ve tkáni (Obrázek 21).[22], [47]

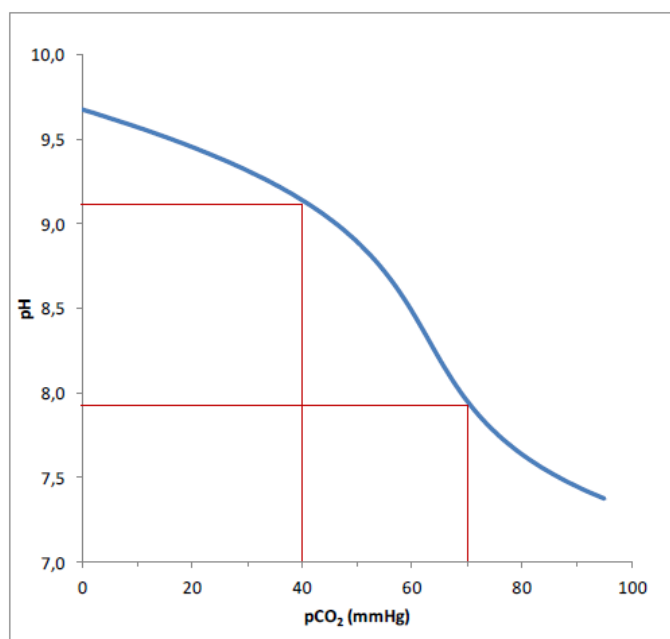


Obrázek 21: Závislost pH na změnách $p\text{CO}_2$ [47]

Z průběhu na obrázku 21 je patrné, že počáteční hodnota pH elektrolytu je 8,3. V zájmové oblasti $p\text{CO}_2$ od 40 do 70 mmHg dosahuje změna pH 0,25 jednotek a průměrná změna je 0,008 jednotky pH/mmHg. Se zvyšujícím se parciálním tlakem $p\text{CO}_2$ klesá citlivost systému.[47]

Pro vytvoření ideální elektrody, kterou by bylo možné monitorovat zvyšující se parciální tlak $p\text{CO}_2$ v průběhu kompartment syndromu uvnitř končetiny, je nutné upravit složení vnitřního elektrolytu. Změnou složení elektrolytu by měla mít, dle teoretických propočtů, závislost změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v zájmové oblasti větší strmost křivky. Tím by bylo dosaženo vyšší citlivosti systému na sledovanou změnu. Pokud bude elektrolyt obsahovat 0,008 M NaHCO_3 a 0,002 M Na_2CO_3 , počáteční pH elektrolytu se teoreticky posune k hodnotě 9,7 a v zájmové oblasti od 40 do 70 mmHg by se mělo pH měnit od 9,14 do 7,94. Výsledná citlivost by se tedy pohybovala v průměru okolo 0,04 jednotky pH/mmHg, tedy pětikrát vyšší než pro původní složení elektrolytu.

Popisovaná teoretická změna závislosti pH na $p\text{CO}_2$ s využitím modifikovaného elektrolytu je uvedena na následujícím obrázku 22.[47]



Obrázek 22: Závislost změny pH na $p\text{CO}_2$ v modifikovaném elektrolytu [47]

Provedením experimentu, ve kterém bude simulován kompartment syndrom pomocí experimentálního modelu v laboratorních podmínkách, budou ověřeny uvedené teoretické závislosti spolu s možností využití ISFET pH senzorů pro neinvazivní diagnostiku nástupu kompartment syndromu.

Laboratorní model kompartment syndromu lze vytvořit z vhodné nádoby naplněné roztokem elektrolytu, ve které bude řízen parciální tlak CO_2 v plynné fázi při konstantním tlaku v baňce. [47]

K měření změny pH v závislosti na změnách parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ bude využita nejprve skleněná pH elektroda a následně ISFET pH senzor. Metodice měření pH s popisem využitých elektrod a jejich technických parametrů se věnují následující kapitoly.

3.3 Měření pH

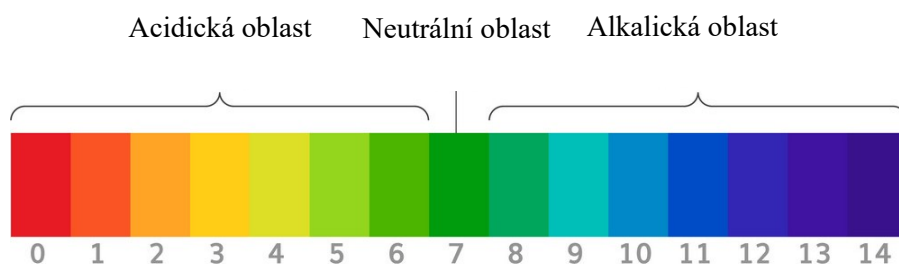
Stanovení hodnoty pH lze považovat za jednu z velmi důležitých charakteristik chemických průběhů a zejména pak biochemických dějů. Způsob měření je volen vzhledem k požadované přesnosti určení hodnoty pH. Rozlišujeme měření orientační, kde se využívají pro stanovení hodnoty pH roztoky acidobazických indikátorů nebo indikátorové papírky a měření přesné, kde je stanovena hodnota pH na základě měření pomocí pH metrů.[65]

Hodnotu pH lze definovat jako záporně vzatý dekadický logaritmus aktivity oxoniových kationtů. To lze zapsat následující rovnicí.

$$pH = -\log(c(H_3O^+)) \quad (1)$$

Ve vodných roztocích se vyskytují molekuly H_2O spolu s oxoniovými kationty H_3O^+ a hydroxylovými anionty OH^- . V závislosti na přebytku H_3O^+ vzniká kyslejší roztok. Změřené pH nabývá hodnot v rozmezí 0 až 14, kde hodnoty pH pod 7 zahrnují kyselou (acidickou) oblast a při hodnotách větších jako 7 se jedná o zásaditou (alkalickou) oblast. V pH neutrálním roztoku je koncentrace vodíkových (oxoniových) kationtů a hydroxylových aniontů stejná a na stupnici pH jej znázorňuje hodnota 7.[65], [66]

Škála pH je znázorněna na následujícím obrázku.



Obrázek 23: pH škála s vyznačenými oblastmi [67]

3.3.1 Princip měření pH

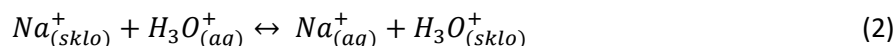
Orientační měření je založeno na chemických reakcích mezi měřeným roztokem a chemickou látkou napuštěnou v indikátorovém papírku. Při těchto reakcích dochází ke změně barvy na papírku. Běžně se využívají tyto látky:

- Lakmus
- Fenolftalein
- Methyloranž
- Methylčerven

[65]

Druhou možností je potenciometrické měření. Nejrozšířenějšími elektrodami potenciometrického měření jsou membránové elektrody. Tato metoda je založena na elektrochemickém principu a je využívána u měření s pH metry. Pokud je k měření použita nejrozšířenější skleněná elektroda, jedná se o iontově selektivní elektrodu, která má iontově selektivní membránu z tenké vrstvy skla asi 0,1 mm.

Ta vytváří na povrchu hydratovanou vrstvu, v níž jsou shodné ionty ze skla nahrazeny hydroxonovými ionty z měřeného roztoku. Po určité době namáčení se ustaví rovnovážný stav a hydratovaná vrstva působí jako měnič iontů dle následujícího vztahu: [65], [68]



V důsledku této výměnné reakce, která probíhá na vnitřní i vnější straně skleněné membrány, je vznik membránového potenciálu závislého na pH měřeného roztoku podle rovnice:

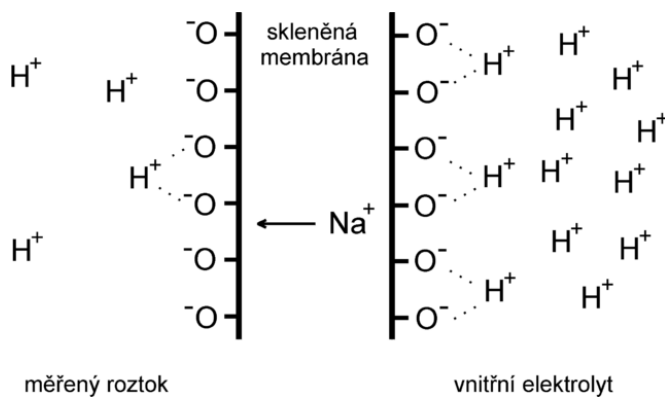
$$E_m = K + E_{asym} + 0,059 \log a_{H_3O^{+}} = K' - 0,059 pH \quad (3)$$

[65], [68]

Kde E_{asym} je tzv. asymetrický potenciál, který vzniká v důsledku odlišnosti vnitřní a vnější strany skleněné membrány. Což znamená, že i při stejných aktivitách vodíkových iontů ve vnitřním i vnějším roztoku není membránový potenciál roven nule. Asymetrický potenciál je kompenzován při kalibraci skleněné elektrody.[68]

Z rovnice (3) vyplývá, že potenciál indikační elektrody je lineárně závislý na pH měřeného roztoku. Vznik potenciálu je tedy výsledkem výměnných dějů mezi ionty v krystalické mřížce skla a ionty v roztoku a jeho velikost je přímo úměrná rozdílu hodnoty pH měřeného a vnitřního roztoku v elektrodě.[68]

Chemické pochody na skleněné membráně jsou znázorněny na následujícím obrázku



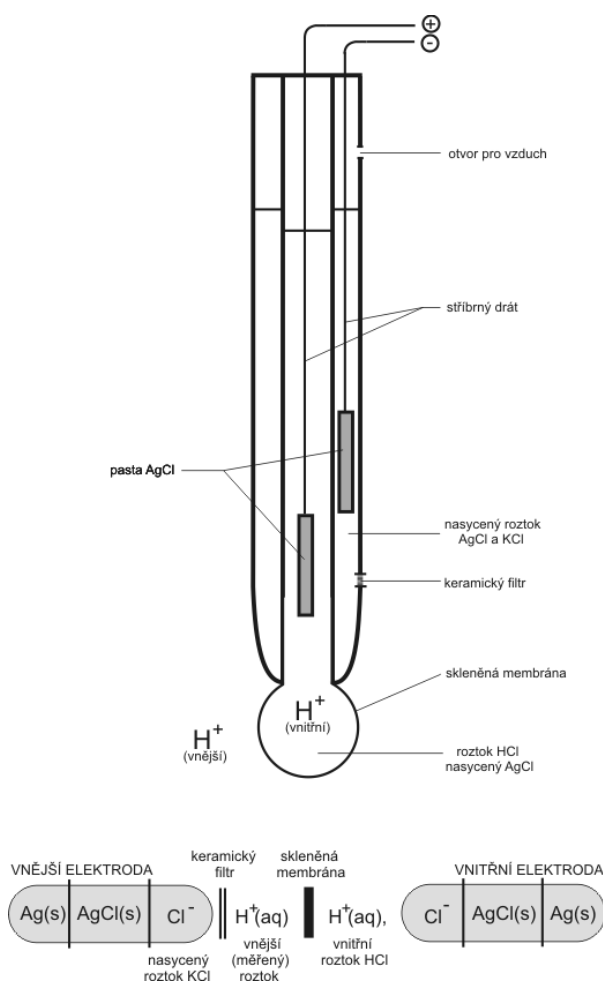
Obrázek 24: Chemické pochody na skleněné membráně [69]

3.3.2 Elektrody pro měření pH

Skleněná elektroda

Nejrozšířenější iontově selektivní elektrodou je skleněná pH elektroda, která využívá tenkou skleněnou membránu (0,1 mm), která reaguje na změny aktivity vodíkových iontů H^+ . V dnešní době jsou skleněné elektrody vyráběny výhradně z SiO_2 a jsou spojeny přes tetraedrickou síť, jejíž záporný náboj kompenzují volně pohyblivé kationty (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Li^+ , ad.) Krom toho jsou skleněné elektrody vyráběny s obsahem různých množství jiných oxidů kovů, jako Na_2O a CaO . Složení skla určuje selektivitu vůči různým iontům. Nejčastěji mají pH elektrody kombinovaný design, ve kterém jsou skleněná membrána a nezbytné referenční elektrody začleněny do stejného těla elektrody a tvoří galvanický článek. Jedna elektroda má známý konstantní elektrodový potenciál. Tato elektroda je srovnávací neboli referenční a nejčastěji hovoříme o elektrodě kalomelové nebo argentchloridové. Druhá elektroda je indikační neboli měrná a její potenciál je přímo úměrný funkci aktivity vodíkových iontů H^+ a závisí na hodnotě pH. Jedná se o speciální skleněnou elektrodu naplněnou roztokem o známé a konstantní hodnotě pH, do něhož zasahuje vnitřní srovnávací elektroda.[68], [70]

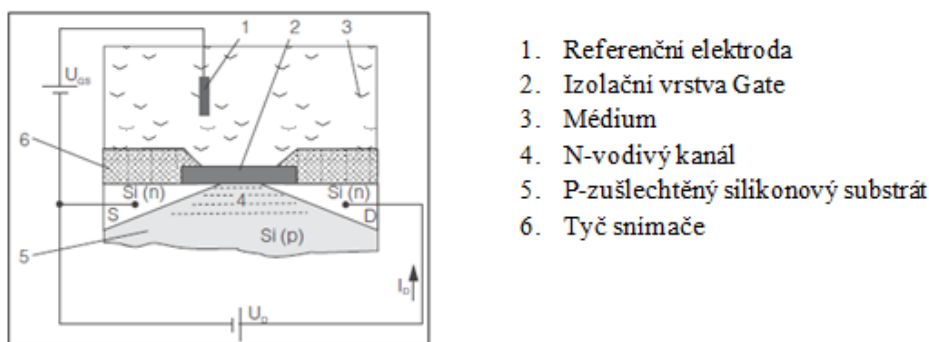
Schéma typické kombinované pH elektrody je znázorněno na *obrázku 25*.



Obrázek 25: Skleněná elektroda [65]

ISFET pH senzor

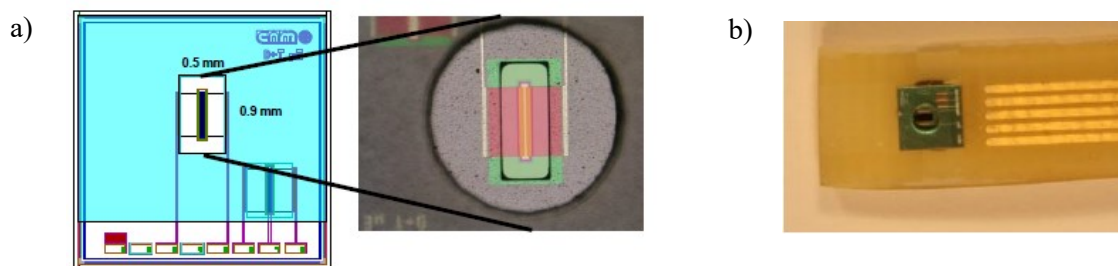
Tranzistory s iontově citlivým efektem pole jsou nová integrovaná zařízení v mikroelektrochemických laboratořích na čipových systémech. ISFET tranzistory jsou realizovány mikroelektronickou technologií, která je kompatibilní s procesy CMOS, což umožňuje výrobu senzorů na bázi destiček. Při výrobě ISFET senzorů se používá litografie, což je postupné nanášení jednotlivých vrstev, vytváření struktury pomocí masek. Jedná se o běžný typ chemicky citlivých tranzistorů. Spojují chemické a elektrické domény tj. přenos chemických informací do elektrického signálu. Iontově selektivní tranzistory s efektem pole se zakládají na využití uspořádání tranzistorů MOSFET, kterému chybí Gate z kovu jako řídicí elektroda a fungují na principu změny vodivosti prostřednictvím elektrického pole. Místo toho se u ISFET tranzistorů nachází médium v přímém kontaktu s izolační vrstvou Gate. Do P-vodivého základního materiálu polovodiče (Si) difundovaly dvě silně N-vodivé oblasti. Ty působí jako elektroda dodávající (Source) a přijímající (Drain) proud. Kovová elektroda Gate u MOSFET případně médium u ISFET tvoří společně se substrátem, který se zde nachází, kondenzátor. Rozdíl potenciálu napětí mezi Gate a substrátem (U_{GS}) způsobuje zvýšení hustoty elektronu v rozsahu mezi Source a Drain. Vzniká vodivý kanál, takže při indukcí napětí protéká proud. Chemická citlivost ISFETU je řízena vlastnostmi izolačního elektrolytu. Existují různé typy organických materiálů pro pH senzor, jako je například Al_2O_3 , Si_3N_4 , Ta_2O_5 , tyto izolační vrstvy nazýváme, také jako solid-state membrány, které mají lepší vlastnosti než SiO_2 . Tyto membrány mají větší citlivost, větší životnost, vzhledem k menší hydrataci vrstvy a nižší napěťový drift.[71], [72], [73], [76]



Obrázek 26: Princip ISFET senzoru [71]

U ISFET elektrody vytváří ionty, které jsou přítomné v médiu a nacházejí se v limitní vrstvě média/Gate-izolator, elektrického pole (potenciál Gate). Popsaný efekt vede v křemičitém polovodivém substrátu mezi Source a Drain ke vzniku vodivého kanálu a způsobuje tok proudu mezi Source a Gate. Vhodná spínání snímačů využívají závislost iontově selektivního potenciálu Gate ke generaci výstupního signálu, který je proporcionální ke způsobu koncentrace iontů.[71]

Návrh čipu ISFET elektrody a již zkonstruovaná elektroda je na následujícím *obrázku*.



Obrázek 27: a) Návrh čipu a elektroda Gate, b) ISFET elektroda [86]

Izolátor Gate slouží jako ionoselektivní vrstva pro ionty H^+ . Izolátor je sice pro tyto ionty nepropustný, ale umožňuje opačné reakce hladin s ionty H^+ . V závislosti na charakteru roztoků měření (kyselé/zásadité) přijímají funkční skupiny v povrchu izolátoru ionty H^+ nebo je vydávají (amfoterní charakter skupin). To vede ke kladnému (příjem H^+ v kyselém roztoku) nebo k zápornému (výdej H^+ v zásaditém roztoku) nabití povrchu izolátoru. Mechanismus zodpovědný za povrchový náboj oxidu může být popsán sitebingovým modelem, který popisuje rovnováhu mezi amfoterními povrchy $SiOH$ a H^+ ionty v roztoku: [71], [74]



Kde H_B^+ představuje protony ve většině roztoků. Z těchto chemických reakcí je zřejmé, že původně neutrální povrchové hydroxylové místo může vázat proton z objemového roztoku a stát se tak pozitivním místem nebo naopak darovat proton do roztoku, přičemž si zanechá negativní místo na povrchu oxidu. Z tohoto důvodu se nazývá amfoterní místo.[74]

Tímto způsobem je možné v závislosti na hodnotě pH využít definovaného náboje povrchu k řízení efektu pole v kanálu mezi Source a Drain. Procesy, které vedou k tvorbě potenciálu náboje a tím k řídicímu napětí U_{GS} mezi Gate a Source, jsou popsány Nernstovou rovnicí:[71]

$$U_{GS} = U_0 + \frac{2,3 \cdot RT}{nF} \cdot \log a_{ion} \quad (6)$$

Kde: U_{GS} - Napětí mezi Gate a Source

U_0 - Napětí offsetu

R - Plynová konstanta (8,3143 J/molK)

T - Teplota [K]

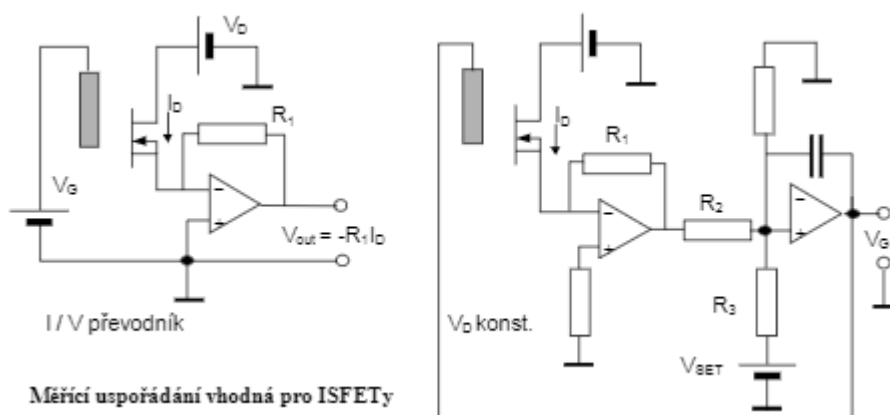
N - Elektrochemická hodnota (1/mol)

F - Faradayova konstanta (26,803 Ah)

a_{ion} - Aktivita druhu iontů (H^+)

Nernstova rovnice definuje závislost měřicího napětí na příjmu iontů (hodnota pH) a teplotě.[71]

Pro měření s ISFETy se využívá zapojení operačních zesilovačů a je také zapotřebí použít referenční elektrodu. Vhodné schématické zapojení zesilovačů je znázorněno na následujícím obrázku.[76]



Obrázek 28: Principiální zapojení zesilovačů pro měření s ISFET senzory [76]

Zapojení, které je znázorněno vlevo na předchozím obrázku, pracuje s konstantním napětím hradla V_G a měří se protékající proud I_D . Při konstantním V_G se může výhodně použít stejná referenční elektroda pro několik ISFETů (znázorněna šedě). Druhé zapojení umožňuje měření proměnného V_G zpětnou vazbou, při konstantním napětí V_D a proudu I_D . Při měření se vyhodnocuje potenciál rozhraní membrány a roztoku.[76]

Mezi hlavní výhody ISFET senzorů patří jejich rychlost odezvy, která urychluje měření, jednoduchá integrace s měřicí elektronikou, menší bezpečnostní riziko spojené s rozbitím elektrody (absence skla), vyšší mechanická odolnost senzoru, menší citlivost na stárnutí, možnost skladování v suchém prostředí a především jejich malé rozměry, díky nimž je lze využít v nejrůznějších aplikacích včetně biomedicíny.[72], [75]

Mezi nevýhody patří jejich vyšší cena, závislost na teplotě s existujícím rizikem poškození při rychlých teplotních změnách, pracují pouze s pH metry pro ISFET senzory, nesmí být používány společně s chlórem, který může poškodit čip a poslední nevýhodou je jejich větší napěťový drift.[75]

3.4 Plyny

Parciální tlak v experimentálním modelu kompartment syndromu bude simulován objemovým mícháním směsi plynů se zastoupením CO_2 a vzduchu. Tato směs bude vháněna do baňky s elektrolytem, ve kterém probíhá změna pH v závislosti na koncentraci CO_2 ve vháněné směsi plynu. Čím bude vyšší objemové zastoupení CO_2 ve směsi, tím vyšší bude parciální tlak uvnitř baňky.

Plyny představují jednu ze tří forem základního skupenství látek. Plyny se vyznačují poměrně velkou vzdáleností jednotlivých částic mezi sebou. Ačkoliv se tyto částice pohybují, nepůsobí na sebe žádnými silami. Plyny mohou být charakterizovány dvěma energiemi a to energií potenciální a energií kinetickou, přičemž energie kinetická je u plynů mnohem vyšší.[78]

Vlastnosti plynů:

- Nestálý tvar
- Proměnný objem
- Absence volného povrchu – vyplňují celý prostor
- Stlačitelnost
- Elektrický izolant (za jistých okolností, nejčastěji při velmi vysoké teplotě se může jednat o vodič)
- Šíření tepla prouděním

Pro zjednodušení výpočtů je i zde zaveden pojem ideální plyn. Ten je dokonale až nekonečně stlačitelný a jednotlivé částice plynu se pohybují bez tření a chovají se jako dokonale pružné koule.[78]

Rozpustnost plynů

- Plyny se mísí ve všech poměrech, neomezeně
- Plyny se rozpouští v kapalinách exotermicky, rozpustnost plynů klesá s rostoucí teplotou
- Rozpustnost závisí na tlaku plynu nad roztokem (parciální tlak)

[79]

Rozpustnost plynů v kapalinách

Částice plynu se rozptylují mezi částice kapaliny. Při tomto procesu nemusí docházet k vzájemné reakci částic kapaliny a plynu mezi sebou. Při zachování podmínek, při kterých dochází k rozpouštění plynu v kapalině (teplota, tlak), se bude plyn rozpouštět do chvíle, dokud nedosáhne hodnot odpovídajícím nasycenému roztoku. Nasycený roztok se vyznačuje rovnováhou s nerozpuštěným plynem nad roztokem. Jak bylo již zmíněno výše, rozpouštění plynu je exotermický proces, tedy dochází k uvolňování energie ve formě tepla. Rozpustnost plynů v kapalinách je nepřímo úměrně závislá na teplotě (s rostoucí teplotou rozpustnost klesá) a přímo úměrně na jeho parciálním tlaku (tlak plynu nad povrchem kapaliny). Tuto závislost popisuje Raoultův zákon, který je podrobněji zmíněn v následující kapitole 3.4.1.[79]

3.4.1 Henryho a Raoultův zákon

Henryho zákon popisuje závislost mezi tlakem par rozpuštěné látky nad kapalinou a molárním zlomkem této látky v roztoku. Henryho zákon je možné psát v následujícím tvaru: [81]

$$p = k \cdot x \quad (7)$$

Kde: x - molární zlomek rozpuštěného plynu v roztoku
 k - Henryho konstant, charakteristická pro daný plyn

Henryho zákon lze formulovat také druhým způsobem:

$$x = \frac{p}{K} \quad (8)$$

Uvedený vztah popisuje závislost rozpustnosti plynu v kapalině na jeho tlaku nad kapalinou při konstantní teplotě.[79]

Raoultův zákon říká, že tenze páry nad roztokem je úměrná molárnímu zlomku této složky v kapalně fázi. Tento zákon lze popsat následující rovnicí: [80]

$$x_i = \frac{p_i}{p_{oi}} \quad (9)$$

Kde: p_i - parciální tlak syté páry i -té složky
 p_{oi} - tlak syté páry nad čistou i -tou složkou
 x_i - molární zlomek i -té složky v roztoku

U plynu platí, že molární zlomek lze nahradit zlomkem objemovým. Rovnici 9 pak můžeme zapsat následujícím způsobem:

$$p_i = \varphi_i \cdot p_{oi} \quad (10)$$

Henryho zákon vlastně představuje analogii Raoultova zákona, odlišnost je pouze v konstantě úměrnosti. Množství plynu rozpuštěného v objemové jednotce kapaliny, se kterou nereaguje, je za konstantní teploty přímo úměrné tlaku plynu nad kapalinou. Aby Henryho zákon platil, nesmí plyn s kapalinou reagovat. Jinými slovy čím větší bude parciální tlak, tím více plynu bude rozpuštěno do kapaliny.[79], [80]

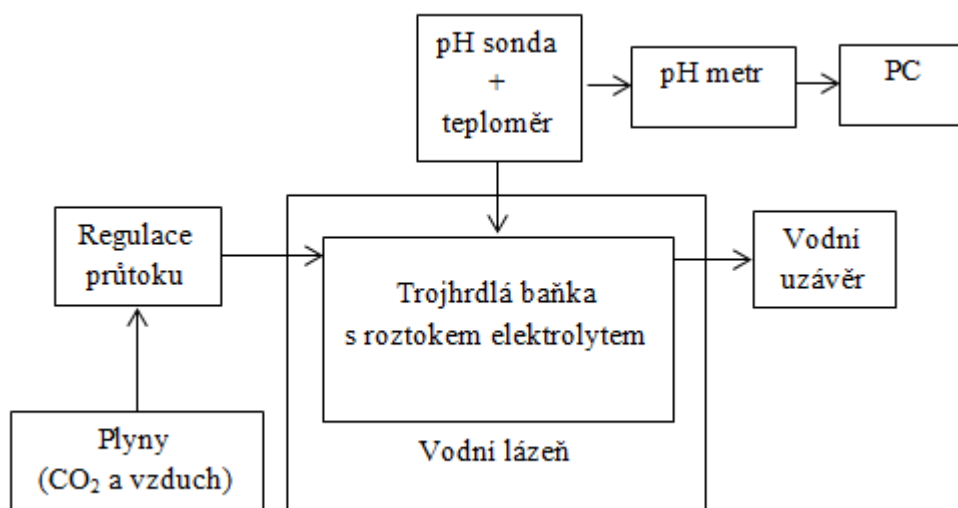
4 Experimentální část

4.1 Návrh testování na modelovém systému CO₂ – vzduch

Navržený model experimentu simuluje průběh kompartment syndromu, kdy při ischemii v důsledku zvyšujícího se intramuskulárního tlaku CO₂ v postižené tkáni končetiny dochází ke zvýšení jeho parciálního tlaku. Díky vyššímu parciálnímu tlaku CO₂ dochází k jeho zvýšenému pronikání přes povrch pokožky. Tohoto jevu by bylo možné využít pro aplikaci vhodně citlivého senzoru, který by se na kůži přiložil a byl by schopný registrovat množství pronikajícího CO₂. Podobně je tomu v případě elektrody Severinghausovy (využívající jako elektrolyt roztok 0,01 M NaHCO₃), která se používá k analýze krevních plynů, konkrétně ke stanovení pCO₂ ve tkáni.

Výhodou nové elektrody z této elektrody vycházející by bylo kontinuální monitorování množství CO₂ procházející kůží v reálném čase bez nutnosti neustálého odebrání a analyzování vzorků, jak je tomu u již zmíněné Severinghausovy elektrody.

Experimentální proceduru je možno přehledně zobrazit následujícím blokovým schématem.



Obrázek 29: Návrh modelového systému pro simulaci kompartment syndromu.

Pro realizaci samotného měření v modelovém systému byla stanovena metodika měření, která detailněji popisuje uvedenou závislost změny pH na změnách parciálního tlaku pCO₂. Zároveň bylo v této metodice nutné stanovit oblast zájmu, ve které se bude parciální tlak pCO₂ v navrženém modelu měnit, aby se jeho hodnoty pohybovaly ve fyziologických hodnotách, při reálném průběhu kompartment syndromu.

4.1.1 Metodika měření závislosti pH na parciálním tlaku CO₂

Metodika měření vychází z principu Severinghausovy elektrody, v jejímž elektrolytu (roztok hydrogenuhličitanu sodného) dochází ke změně pH v závislosti na množství CO₂, který difunduje z krevního vzorku přes teflonovou membránu elektrody. Ze změny pH se následně vyhodnotí parciální tlak CO₂ ve tkáni.

Ve tkáni postižené kompartment syndromem dochází u člověka ke změnám parciálního tlaku pCO₂, přičemž CO₂ difunduje přes kůži pacienta. Parciální tlak lze v experimentálním systému modelovat objemovým zlomkem plynů. To lze popsat následující rovnicí:

$$P_{CO_2} = \varphi_{CO_2} \cdot P_{atm} \quad (11)$$

Kde: P_{CO_2} – parciální tlak CO₂
 φ_{CO_2} – objemový zlomek
 P_{atm} – okolní tlak

Objemový zlomek lze vyjádřit jako poměr objemových průtoků plynů ve směsi:

$$\varphi_{CO_2} = \frac{V_{m\ CO_2}}{V_{m\ vzduch}} \quad (12)$$

Z uvedeného vztahu lze vypočítat objemové průtoky CO₂ a vzduchu, které budou odpovídat příslušným hodnotám parciálních tlaků pCO₂. Zájmová oblast parciálních tlaků vychází ze studie provedené na Makacích medvěďích, jimž byl simulován kompartment syndrom zaškrcením dolní končetiny a v průběhu trvající ischemie byla sledována změna parciálního tlaku pCO₂ ve tkáni z krevních vzorků pomocí Severinghausovy elektrody. Závislost změny parciálního tlaku na změně pH v elektrolytu z této studie je uvedena v kapitole 3.2.4.

Zájmová oblast parciálního tlaku pCO₂ se pohybuje v rozmezí 40 – 70 mmHg. Pro simulaci tohoto rozmezí parciálních tlaků CO₂ bylo vypočítáno objemové zastoupení CO₂ ve směsi plynu dle vzorce 11. Pro dosažení do vzorce bylo nutné přepočíst jednotku parciálního tlaku mmHg (torr) na jednotku pascal (Pa).

$$\varphi_{CO_2MIN} = \frac{P_{CO_2MIN}}{P_{atm}} \cdot 100 = \frac{5332,88}{101,1 \cdot 10^3} \cdot 100 = 5,275 \%$$
$$\varphi_{CO_2MAX} = \frac{P_{CO_2MAX}}{P_{atm}} \cdot 100 = \frac{9332,54}{101,1 \cdot 10^3} \cdot 100 = 9,231 \%$$

Z výpočtu vyplývá, že objemové zastoupení oxidu uhličitého ve směsi plynu se vzduchem se musí pro vymezenou zájmovou oblast pohybovat v rozmezí 5,275 – 9,231 %. Směs plynu bude s roztokem elektrolytu v experimentálním modelu kompartment syndromu kontaktována pomocí difuzoru plynu (akvaristický kamínek). Jemné bubliny zajistí lepší přestup plynu v kapalině a zajistí promíchávání elektrolytu, které souvisí s lepším teplotním ohřevem objemu elektrolytu a rychlostí ustavení chemické rovnováhy v navrženém experimentální modelu.

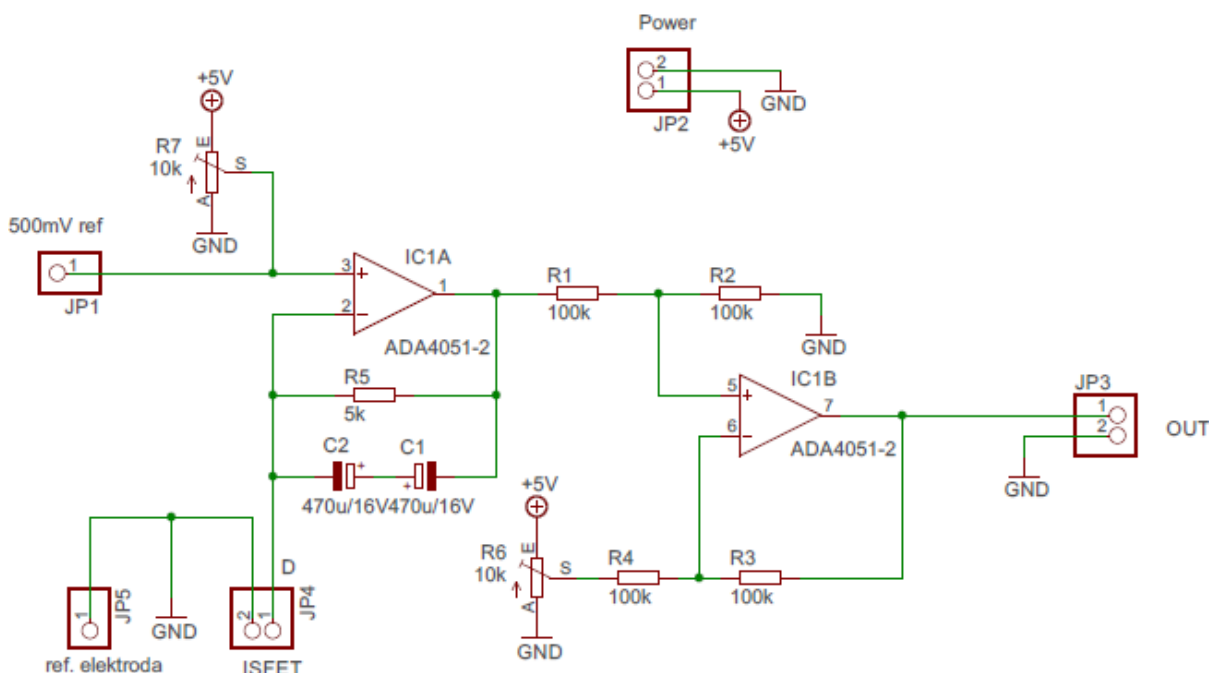
4.1.2 Návrh měření pomocí ISFET senzorů

V navrženém experimentálním modelu popsaném v kapitole 4.1, bylo provedeno měření závislosti změny pH v elektrolytu na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ pomocí skleněné elektrody. Tyto výsledky byly použity pro srovnání s výsledky naměřenými pomocí ISFET pH senzoru, aby bylo možné laboratorně posoudit jeho teoretickou použitelnost i při reálné aplikaci. Pro ověření použitelnosti ISFET senzorů v navrženém experimentálním modelu, který simuluje kompartment syndrom u člověka, bylo nutné zajistit zpracování signálu vycházejícího ze senzoru. Tento signál je proporcionální ke změně pH v elektrolytu, respektive z výstupního signálu senzorů lze dopočítat hodnotu pH tomu odpovídající. Vzhledem k tomu, že pH metr WTW, používaný se skleněnou elektrodou není s ISFET senzory kompatibilní, byly navrženy a realizovány elektronické zpracovací moduly. Tyto moduly zesilují výstupní signál senzoru a je možné díky nim provést také potřebnou kalibraci senzoru.

4.1.2.1 Návrh elektroniky pro vyhodnocovací část

Na základě principu měření a doporučení výrobce s ISFET senzory byly navrženy schémata zapojení elektronických modulů prostřednictvím programu EAGLE pro zpracování výstupního signálu z ISFET senzoru.

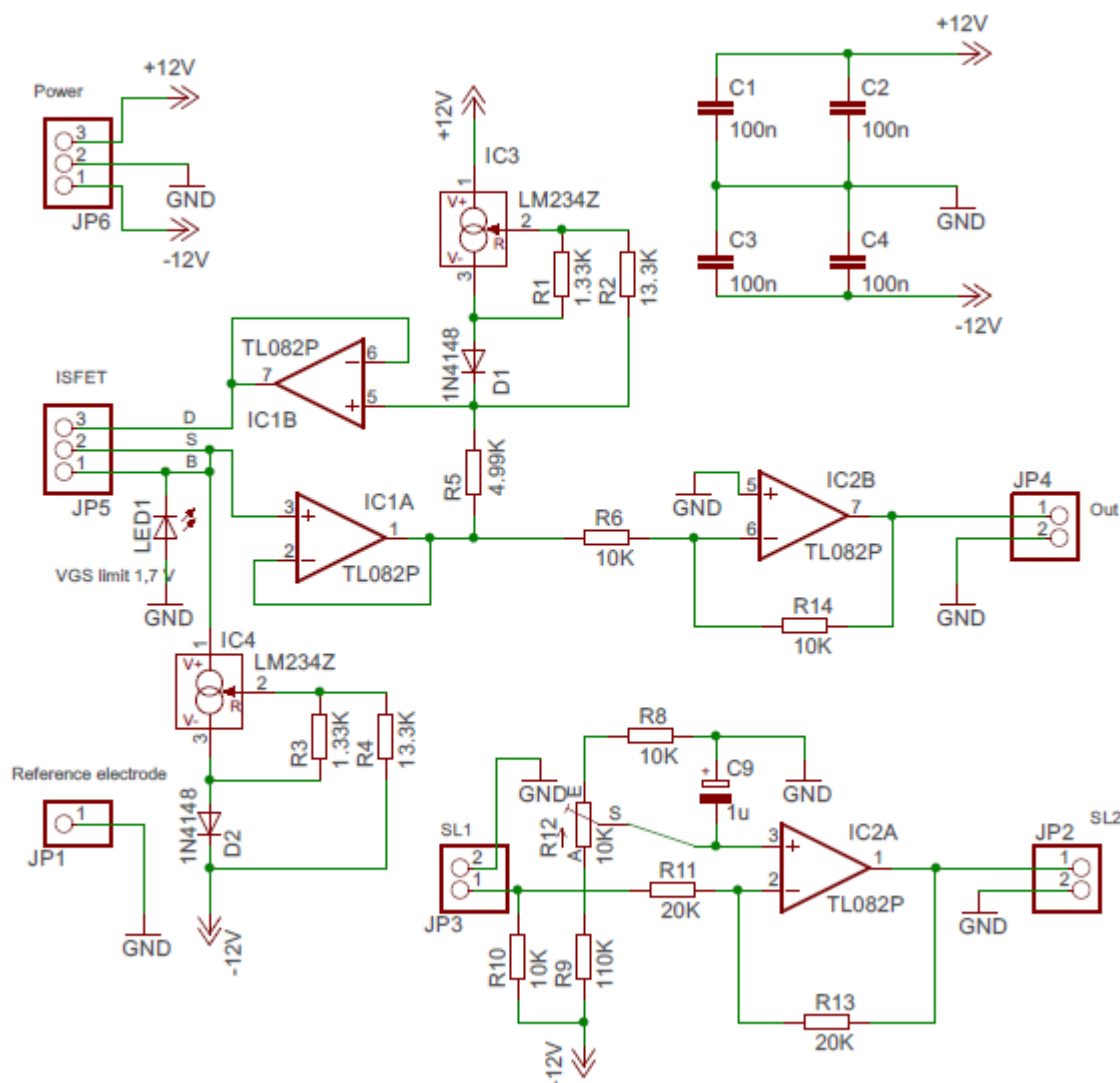
Schéma zapojení prvního modulu je zobrazeno na následujícím obrázku.



Obrázek 30: Schéma zapojení modulu pro vyhodnocení signálu z ISFET senzoru

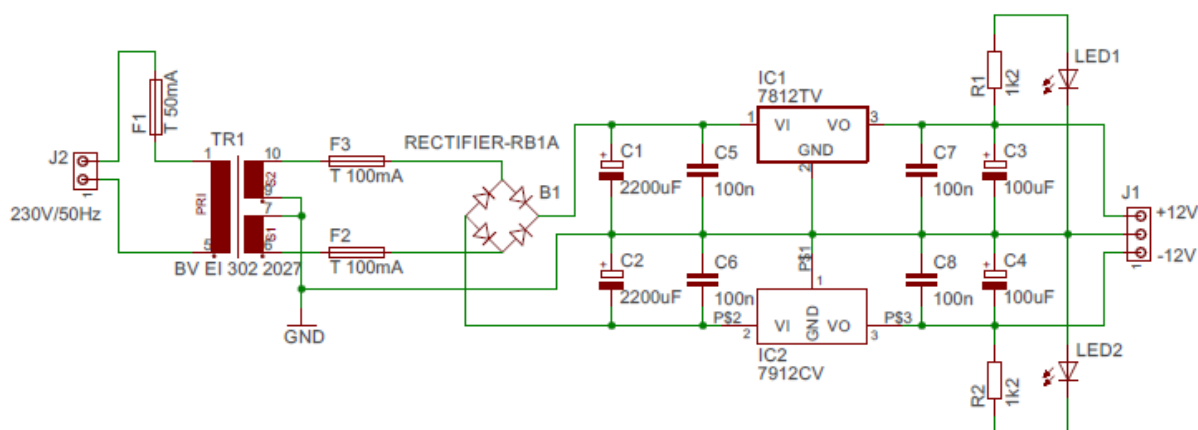
Obvod je napájený stabilizovaným síťovým zdrojem s výstupním stejnosměrným napětím 5 V. K zesílení signálu byl použit operační zesilovač ADA4051-2, který disponuje nulovým napětovým driftem, jeho napájecí proud je pouze 13 μA a je schopen pracovat s napájecím napětím

Druhé schéma zapojení vychází z doporučení výrobce a je uvedeno na následujícím obrázku.



Ze schématu zapojení na obrázku je patrné, že princip měření s tímto obvodem je založen na proudových referencích $100\text{ }\mu\text{A}$, které jsou realizovány obvodem LM234Z. Dále jsou použity sledovače napětí pro impedanční přizpůsobení vstupů a závěrem je signál zesílen výstupním zesilovačem. Obvod se vstupem JP3 slouží pro kalibraci ISFET senzoru a je připojen na výstup

prvního zapojení, tedy na svorku JP2. Pomocí trimru R12 potom probíhá samotná kalibrace senzoru. Referenční elektroda, vůči níž je měřen vzniklý potenciál na ISFET senzoru, je stejně jako v prvním případě připojena na GND. Kondenzátory C1 – C4 slouží pro filtraci napájecího napětí OZ. Je zřejmé, že tento obvod ke své funkci potřebuje symetrické napájecí napětí ± 12 V. Z tohoto důvodu bylo nutné navrhnout napájecí zdroj s tímto symetrickým výstupním napětím. Schéma zapojení je uvedeno na následujícím obrázku.

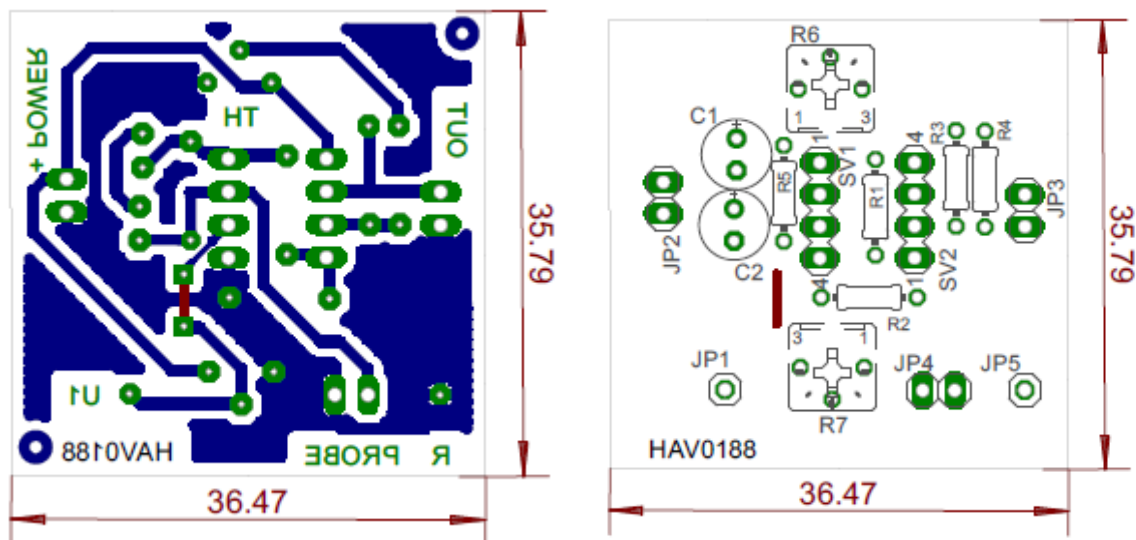


Obrázek 32: Symetrický napájecí zdroj ± 12 V

Na svorku J2 je přivedeno síťové napájecí napětí 230V/50Hz. Pomocí transformátoru je toto napětí transformováno na střídavé napětí 12 V. V další části zapojení je usměrněno pomocí usměrňovacího můstku a přes filtrační kondenzátory je přivedeno na stabilizátory IC1 (stabilizátor +12 V) a IC2 (stabilizátor -12 V). LED1 a LED2 slouží jako signálky, které indikují přítomnost výstupního napětí na výstupu. Svorka J1 je již výstupem celého zapojení, které slouží jako vstup pro druhý elektronický modul zobrazený na obrázku 31.

4.1.2.2 Návrh DPS a osazení komponenty

Po navržení schémat zapojení obou modulů a symetrického zdroje bylo možné přistoupit k návrhu a realizaci desky plošných spojů. Stejně jako schémata zapojení, tak i DPS byly navrženy v programu EAGLE. Navrženou DPS prvního modulu s rozmístěním součástek je možné vidět na obrázku níže.



Obrázek 33: Návrh DPS pro výrobu (vlevo), Rozmístění komponent na DPS (vpravo)

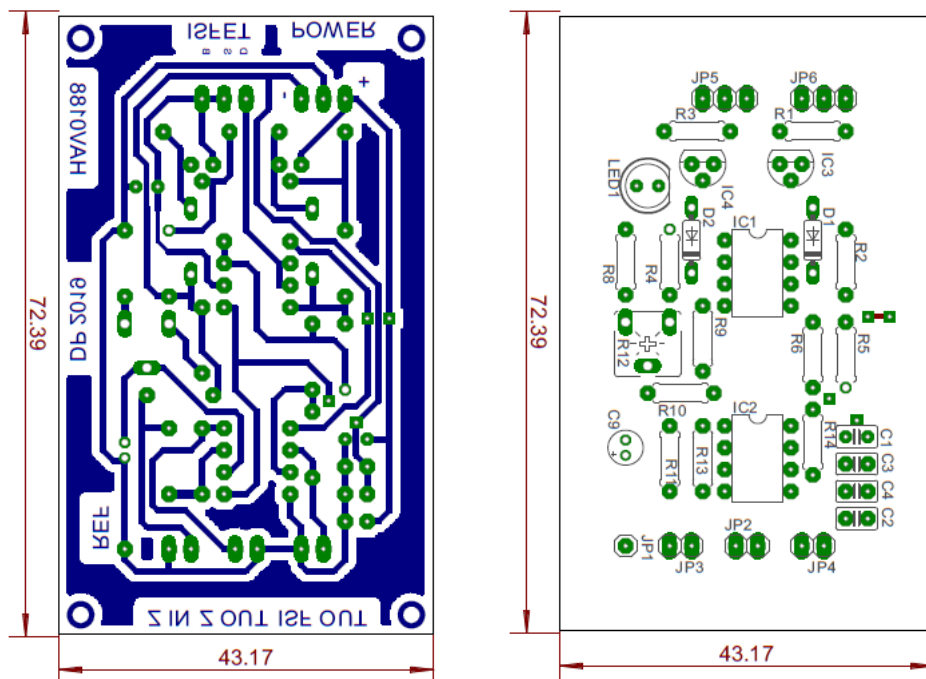
Jedná se o jednovrstvou desku o rozměrech 36,47 × 35,79 mm. Pro snazší výměnu byl OZ ADA4051-2 napájen na speciální patici pro SMD obvody, kterou lze z desky snadno vyjmout a v případě poruchy vyměnit obvod za nový.

Rozpiska součástek pro osazení DPS je uvedena v následující tabulce.

Tabulka 4: Rozpis součástek

Označení	Název	Hodnota	Popis
C1, C2	E2,5-6E	470 μ F/ 16V	kondenzátor elektrolytický
R1 - R4	R0204 100k	100 k Ω	rezistor metalizovaný, 0,5W
R5	R0204 5k	5 k Ω	rezistor metalizovaný, 0,5W
R6, R7	PTC10VK010	10 k Ω	trimr cermetový
JP1, JP5	MA04-1	-	pinheader 1 pin
JP2 - JP4	MA02-1	-	pinheader 2 piny
SV1, SV2	MA04-1	-	pinheader 4 piny
-	ADA4051-2	-	operační zesilovač MSOP8
-	UPS- SO8	-	patice SSOP8/DIL8

Návrh DPS a osazovací plán pro výrobu druhého modulu je uveden na následujícím obrázku.



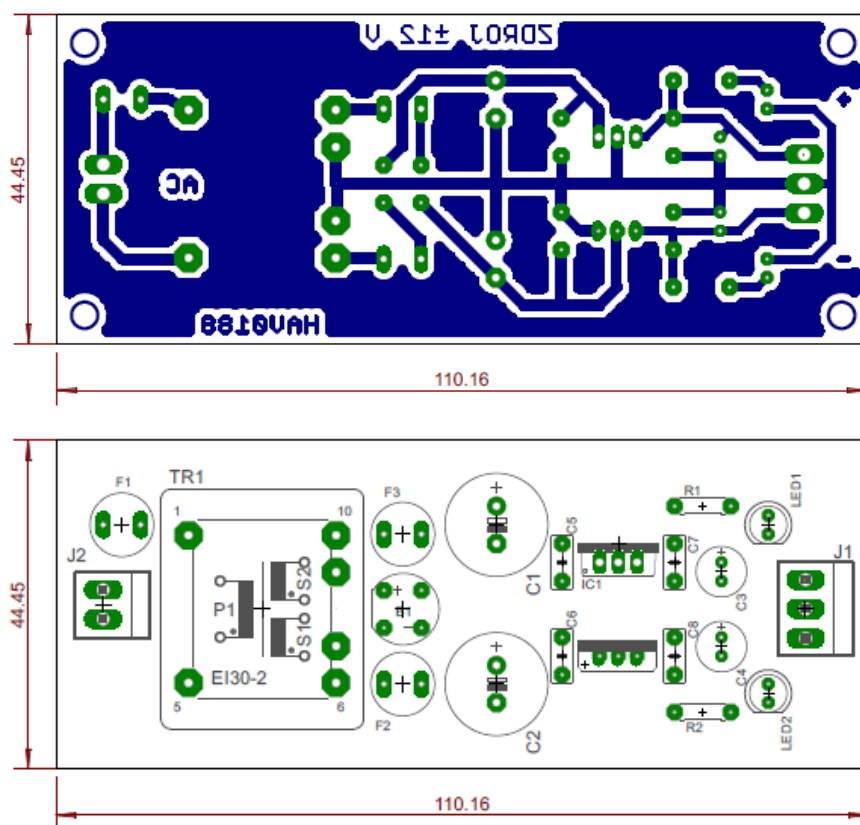
Obrázek 34: Návrh modulu pro výrobu DPS (vlevo), Rozmístění komponent na DPS (vpravo)

Druhý návrh elektronického modulu pro vyhodnocení signálu z ISFET senzoru má rozměry $43,17 \times 72,39$ mm a stejně jako předchozí modul byl navržen pro jednostrannou desku. Komponenty pro osazení této desky jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 5: Rozpiska součástek pro druhý elektronický modul

Označení	Název	Hodnota	Popis
C1 - C4	CK 100n/50V X7R RM5,08 10%	100 nF	keramický kondenzátor
C9	CE 1u/25V HIT-ECR 5x11	1 μ F	elektrolytický kondenzátor
D1, D2	1N4148	DO35-7	diode
IC1, IC2	TL082P	DIL8	operační zesilovač
IC3, IC4	LM234Z	TO92	proudová reference 100 μ A
LED1	RED 5,4/60° HLMP-3301		LED červená 5mm
R1, R3	R0207 1k3	1,3 k Ω	metalizovaný rezistor 0,6 W
R2, R4	R0207 13k	13 k Ω	metalizovaný rezistor 0,6 W
R5	R0207 13k	5,1 k Ω	metalizovaný rezistor 0,6 W
R6, R8, R10, R14	R0207 10k	10 k Ω	metalizovaný rezistor 0,6 W
R9	R0207 110k	110 k Ω	metalizovaný rezistor 0,6 W
R11, R13	R0207 20k	20 k Ω	metalizovaný rezistor 0,6 W
R12	PTC10VK010	10 k Ω	cermetový trimr
JP1	MA01-1	-	pinheader 1 pin
JP2 - JP4	MA02-1	-	pinheader 2 pin
JP5, JP6	MA03-1	-	pinheader 3 pin

Jak bylo zmíněno v předchozí kapitole, druhý modul potřebuje symetrické napájecí napětí ± 12 V. Z tohoto důvodu byl také realizován návrh a výroba symetrického zdroje napájecího napětí. Návrh desky plošných spojů s osazovacím plánem lze vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 35: Návrh DPS pro výrobu symetrického stabilizovaného napájecího zdroje ± 12 V

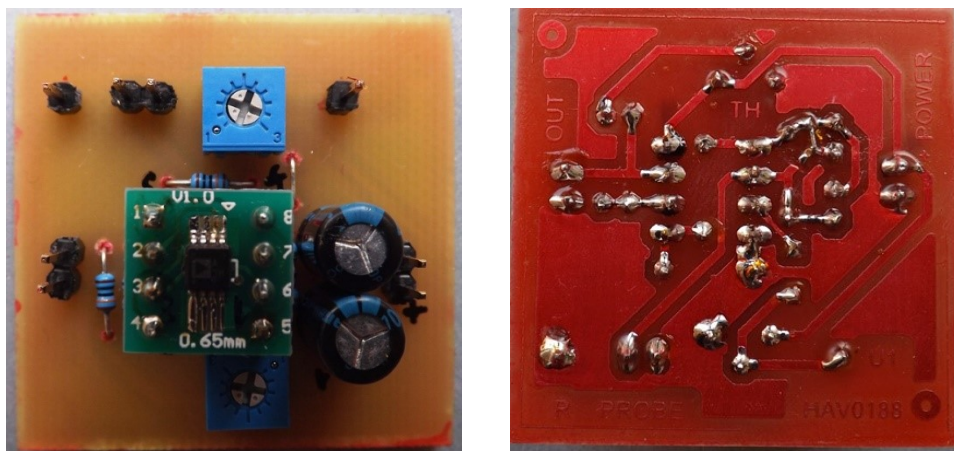
K výrobě této desky byly zapotřebí následující součástky:

Tabulka 6: Rozpiska součástek pro osazení DPS

Označení	Název	Hodnota	Popis
B1	RECTIFIER-RB1A	RB1A	usměrňovací můstek
C1, C2	CE 2200u/10VIT HIT-EXR 10x21 RM5 BULK	2200uF	elektrolytický kondenzátor
C3, C4	CE 100u/50V HIT-ECR 8x12 RM3,5 BULK	100uF	elektrolytický kondenzátor
C5 - C8	CK 100n/50V X7R RM5,08 10%	100 nF	keramický kondenzátor
F1	MST 250 50mA lw	50mA	pojistka do DPS pomalá
F2	MST 250 100mA lw	100mA	pojistka do DPS pomalá
F3	MST 250 100mA lw	100mA	pojistka do DPS pomalá
IC1	7812TV	TO220V	Stabilizátor +12 V
IC2	7912CV	TO220V	Stabilizátor -12 V
LED1, LED2	GREEN 4/35° BL-B2134-L-AT		LED zelená 5mm
R1, R2	R0207 1k2	1,2 kΩ	metalizovaný rezistor 0,6 W
TR1	BV EI 302 2027	±12 V	Transformátor pro PCB1,5VA
J1	ARK500/3		konektor ARK
J2	ARK500/2		konektor ARK

Po návrhu plošných spojů byly tyto DPS vyrobeny. Výroba byla realizována fotocestou. Z programu Eagle byly vytisknuty předlohy motivů jednotlivých DPS na průhlednou folii. Ty se následně aplikovaly na fotorezistivní vrstvu cuprexitu a následně byly desky s přitisknutým motivem vloženy pod UV lampu, kde došlo k osvětlení ploch, které nebyly zakryty motivem. Dalším krokem bylo vyvolání, což se provádí ponořením desky cuprexitu po osvětlení do vývojky (1,5% roztok hydroxidu sodného). V této vývojce dochází k odplavení osvětleného fotorezistu a na měděné folii zůstane zachován pouze osvětlený motiv, který chrání vrstvu mědi před následným odleptáním. Leptání probíhá v leptací kapalině, konkrétně v roztoku chloridu sodného, do kterého se desky s osvětleným motivem ponoří. V tomto roztoku dojde k odleptání nechráněných částí měděné folie a na základové desce cuprexitu zůstane jen požadovaný motiv. Po vyleptání je nutné desky plošných spojů řádně omýt, zastříhnout na požadované rozměry, očistit od nečistot a odstranit zbytky fotorezistu. Následně je možné nanést ochranný pájecí lak a desky osadit vhodnými komponenty.

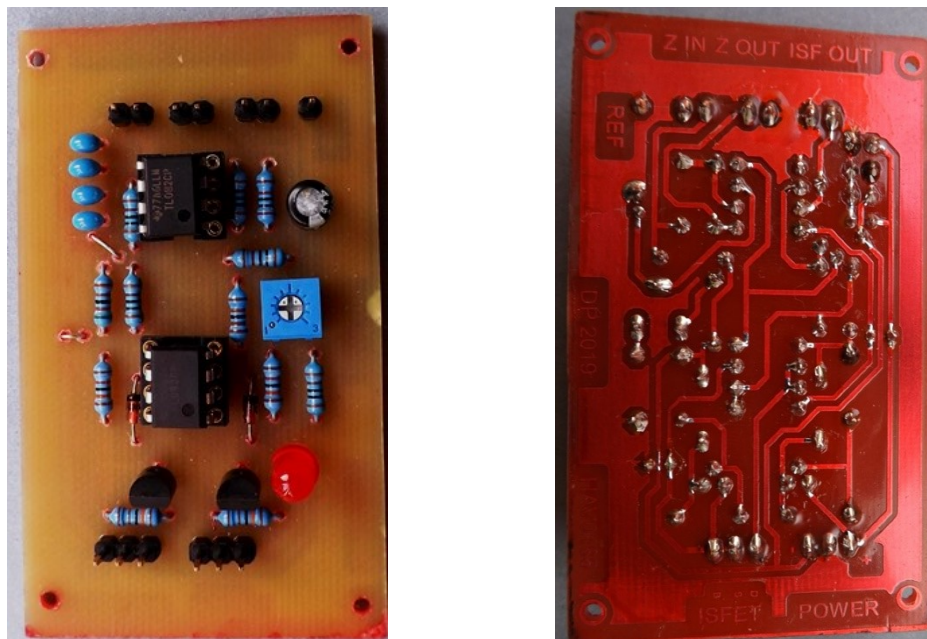
Takto vyrobené a již osazené desky lze vidět na následujících obrázcích:



Obrázek 36: Modul pro zpracování signálu z ISFET senzoru pohled ze strany součástek a ze strany spojů

Na Obrázek 36obrázku 36 je zobrazen první modul pro zpracování signálu z ISFET senzoru. Připojení napájecího napětí, referenční elektrody a ISFET senzorů je realizováno pomocí konektorů BLS. ISFET senzor disponuje třemi vývody (BULK, SOURCE a DRAIN). Dle schématu, které je doporučeno výrobcem senzorů jsou výstupy BULK a SOURCE spojeny na desce (modul na obrázku 37). Na výše zobrazeném modulu je ovšem pro vstup ISFET senzoru vyveden 2 pinový konektor. Z tohoto důvodu bylo nutné realizovat propojení těchto vývodů na přívodním vodiči LYICY 03 v konektoru BLS 02. Výstupní napětí modulu je proporcionální ke změně pH v měřeném roztoku pomocí senzoru. Toto napětí je následně převedeno na hodnotu pH dle kalibrační křivky. Napájení obvodu je realizováno pomocí napájecího adaptéru s výstupním napětím 6,5 V. Výstupní napětí je proto stabilizováno 5V stabilizátorem napětí a následně je jeho výstup zapojen na vstup napájení modulu.

Druhý vyrobený modul je zobrazen na následujícím obrázku:



Obrázek 37: Druhý modul pro zpracování signálu z ISFET senzoru pohled ze strany součástek a ze strany spojů

Pro otestování ISFET senzorů byl vyroben druhý modul dle doporučení výrobce. Připojení senzoru, napájecího napětí a referenční elektrody je realizováno stejným způsobem, jako u prvního modulu. Vzhledem k tomu, že propojení výstupů BULK a SOURCE z ISFET senzoru je realizováno až na DPS, bylo nutné vyrobit přívodní vodič zakončený konektory BLS 03. Funkce tohoto modulu je obdobná jako u prvního zapojení. Při samotné realizaci měření byla ověřena funkčnost obou vyrobených modulů.

Na následujícím obrázku je fotografie napájecího zdroje, který slouží pro napájení druhého modulu zobrazeného na *obrázku 38*.

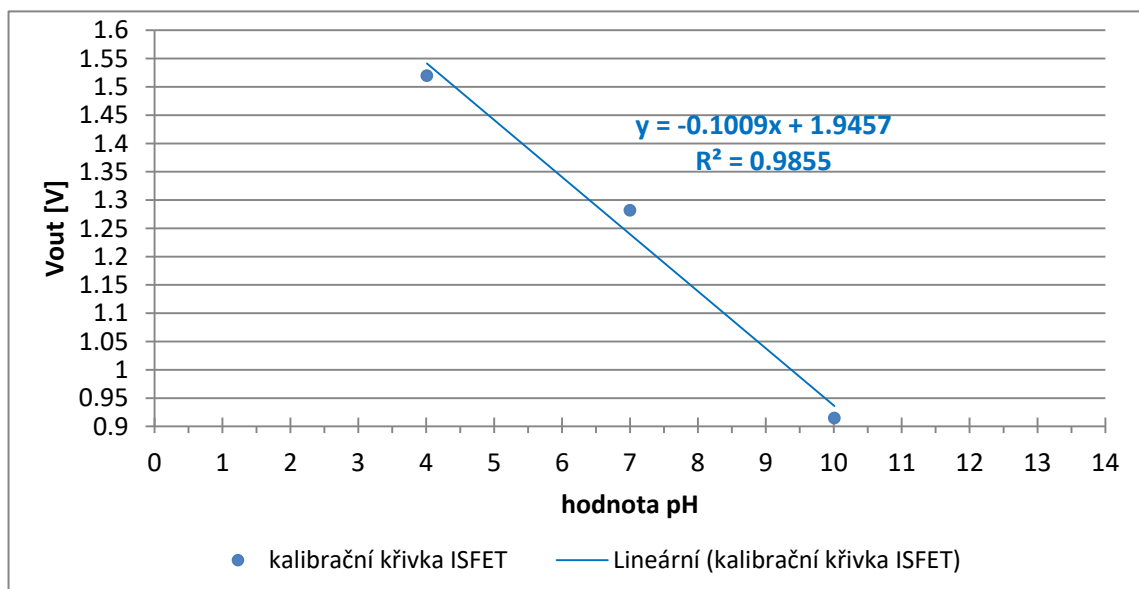


Obrázek 38: Stabilizovaný symetrický zdroj ± 12 V pohled ze strany součástek a ze strany spojů

Druhý modul pro svou funkci potřebuje symetrické napájecí napětí. Z tohoto důvodu bylo nutné vyrobit stabilizovaný symetrický zdroj napětí ± 12 V, který je zobrazen výše. Přítomnost výstupního napětí je signalizována pomocí LED diod. Připojení výstupního napětí na vstup druhého modulu je realizováno pomocí vodiče zapojeného do svorky ARK, zakončeného konektorem BLS 03, který je možno připojit k modulu.

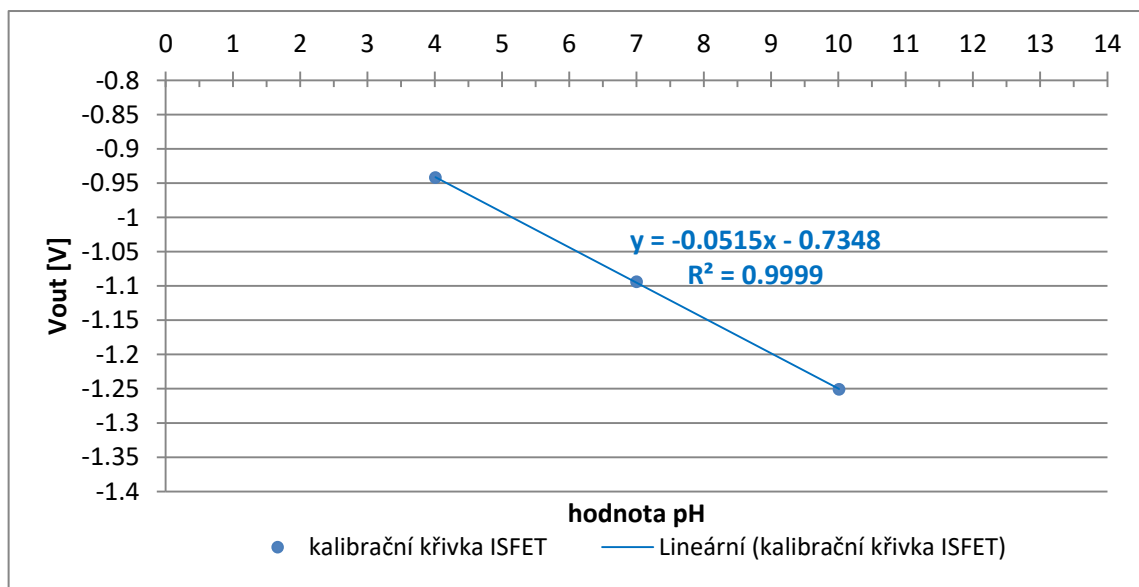
Výstupní napětí modulů bylo měřeno pomocí multimetru Voltcraft VC830. Ten je možné propojit s PC pomocí speciálního optického konektoru a pomocí přiložené aplikace realizovat sběr dat (napětí) v požadovaných časových intervalech. Toto výstupní napětí lze dle změřených kalibračních křivek (tříbodová kalibrace) převést na tomu odpovídající hodnotu pH.

Kalibrační křivka ISFET pH senzoru pro první modul je znázorněna na obrázku níže.



Obrázek 39: Kalibrační křivka ISFET senzoru pro první modul

Tato křivka byla získána změřením výstupního napětí modulu při ponoření ISFET senzoru s referenční elektrodou do příslušných pufrů o hodnotách pH 4, 7 a 10. Následně byly tyto body proloženy přímkou. Jedná se o tzv. třítodovou kalibraci. Obdobným způsobem byla získána kalibrační křivka pro druhý modul. Ta je zobrazena na následujícím obrázku.



Obrázek 40: Kalibrační křivka ISFET senzoru pro druhý modul

Z kalibračních křivek je patrné, že druhý modul vykazuje vyšší linearitu měření. Z tohoto důvodu byl pro měření v experimentálním modelu kompartment syndromu zvolen právě druhý modul.

4.2 Realizace experimentu

4.2.1 Použité vybavení a chemikálie

Pro sestavení experimentální aparatury, pro model simulující kompartment syndrom bylo zapotřebí následující vybavení:

- Vodní lázeň JULABO TW2
- Průtokoměry SUPELCO 503851
- Trojhrdlá baňka o objemu 500 ml
- Probublávačka
- Termočlánky pro měření teploty
- pH metr a pH elektrody – skleněná pH elektroda a ISFET pH senzor
- Plyny - vzduch a CO₂
- Chemikálie pro přípravu elektrolytu:
 - Hydrogenuhličitan sodný - NaHCO₃
 - Uhličitan sodný - Na₂CO₃
 - Chlorid sodný - NaCl
- Pomůcky pro přípravu roztoku elektrolytu
 - Váženky a chemická lžička
 - Odměrná baňka o objemu 2000 cm³
- Skleněný bublinový flowmeter
- Analyzátor průtoků patientských ventilátorů FLUKE VT PLUS HF

Detailněji jsou jednotlivé komponenty popsány níže.

Vodní lázeň JULABO TW2

Vzhledem k tomu, že experiment simuluje chování lidské tkáně, respektive chemické pochody v ní, při kompartment syndromu, bylo potřebné vytvořit obdobné podmínky v navrženém modelu, jako v lidském těle. Jednou z těchto podmínek je teplota lidského těla, která se u pacientů s projevy CS pohybuje okolo 37 °C. Vodní lázeň slouží k ohřevu elektrolytu, v němž probíhají chemické procesy jako v lidské tkáni. Termostatovaná lázeň, která byla použita pro sestavení experimentální aparatury, disponuje teplotním rozsahem 20 – 99,9 °C. Výrobce uvádí tepelnou stabilitu v rozmezí $\pm 0,2$ °C a přesnost nastavení požadované teploty na displeji 0,1 °C. Vnitřní rozměry vodní lázně, které jsou určující pro maximální velikost použité baňky, jsou 15×13×11 cm. Vzhledem k těmto rozměrům byl zvolen objem trojhrdlé baňky na 500 ml.

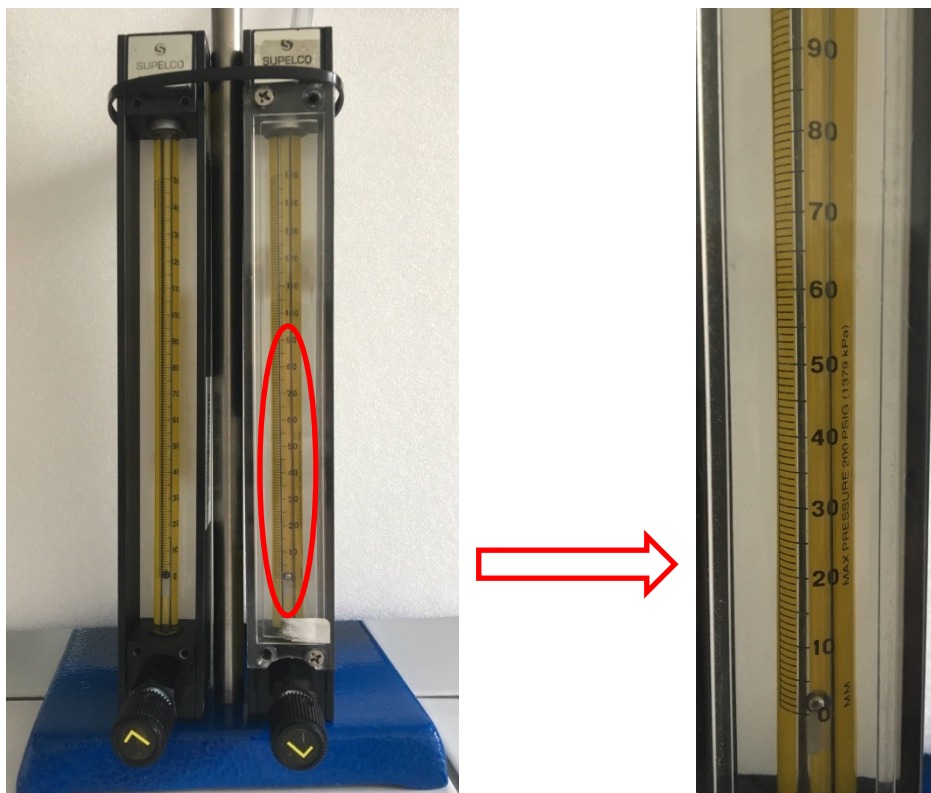


Obrázek 41: Vodní lázeň JULABO TW2

Průtokoměry SUPELCO 503851

V navrženém experimentu průtokoměry slouží k regulaci průtoků technických plynů z tlakových lahví do trojhrdlé baňky. Regulován bude konkrétně průtok vzduchu a CO₂ jejichž poměr určuje parciální tlak pCO₂ uvnitř baňky, což reálně simuluje parciální tlak pCO₂ v lidské tkáni. Aby bylo možné namíchat směs plynu o přesné objemové koncentraci a bylo zajištěno dosažení kvalitních výsledků experimentu, je kladen důraz na přesnost regulace použitých průtokoměrů. K použitým průtokoměrům výrobce nabízí příslušenství ve formě výměnných plováků (kuliček), kterými lze změnit měřený rozsah průtokoměru. Hodnoty průtoků pro jednotlivé plováky jsou uvedeny v kalibračním listu výrobce. Aby bylo možné tyto průtokoměry použít, bylo tedy nutné provést ověření hodnot průtoků uváděných v kalibračním listu výrobcem.

Průtokoměry SUPELCO 503851 jsou zobrazeny na následujícím obrázku.



Obrázek 42: Průtokoměry SUPELCO 503851 s detailem stupnice

Trojhrdlá baňka

Maximální velikost baňky, do které bude vháněna směs plynu a umístěn elektrolyt, byla zvolena dle rozměrů vodní lázně na objem 500 ml. Důraz byl kladen zejména na to, aby bylo možné baňku co nejvíce ponořit do teplosměrného média z důvodu přenosu tepla do elektrolytu uvnitř. Tři hrdla baňky budou využita následovně – vstup směsi plynu, výstup plynu z aparatury, zavedení sondy pro měření pH a případné měření teploty elektrolytu.

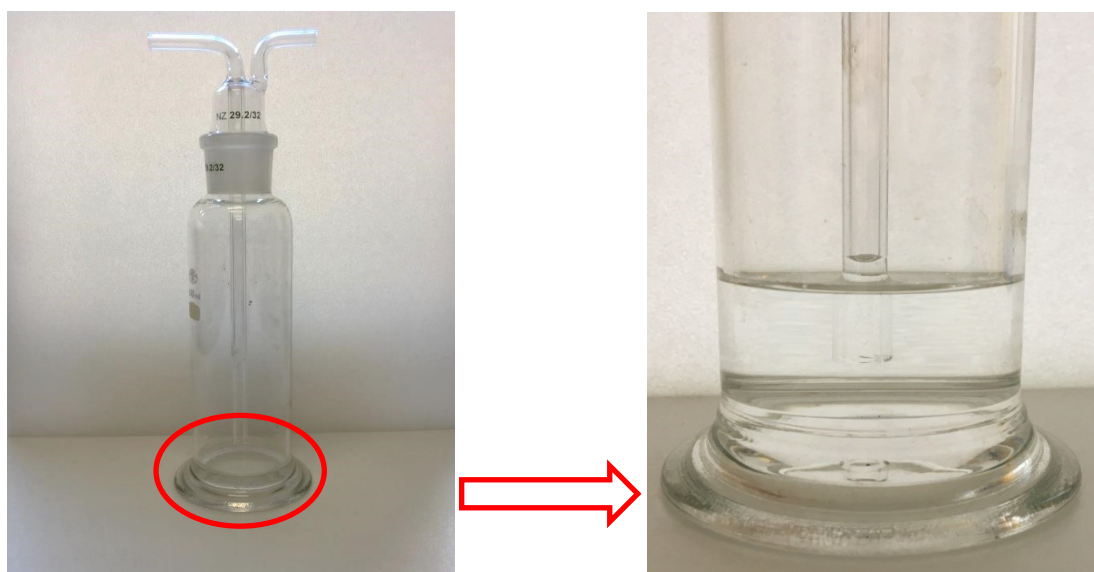
Trojhrdlá baňka je vyobrazena na následujícím obrázku.



Obrázek 43: Trojhrdlá baňka o objemu 500 ml

Probublávačka

Aby bylo možno udržovat konstantní tlak uvnitř baňky, byla na konec experimentální aparatury zařazena probublávačka s nízkou úrovní vodního sloupce, která funguje jako vodní uzávěr. Ve vytvořeném měřicím modelu probublávačka simuluje přetrvávající tlak uvnitř končetiny při průběhu kompartment syndromu.



Obrázek 44 Probublávačka s detailem vodního sloupce

Termočlánky

Tepelná stabilita vodní lázně byla pro návrh experimentálních podmínek ověřena pomocí termočlánků typu K. Této problematice je věnována kapitola 4.2.6.2 a 4.2.6.3. Použité termočlánky včetně vyhodnocovací jednotky jsou schopny měřit teploty v rozsahu -200 až 1000 °C s přesností 0,1 °C.

Použitý termočlánek s vyhodnocovací jednotkou je zobrazen na obrázku níže.



Obrázek 45: Termočlánek s vyhodnocovací jednotkou

pH elektrody

Vlivem změny parciálního tlaku CO_2 dochází ke změně pH uvnitř elektrolytu. Hodnota pH vypovídá o nasycení roztoku CO_2 . Tento děj simuluje obdobné principy, ke kterým dochází při kompartment syndromu ve tkáni. K registraci změny pH elektrolytu v závislosti na nastaveném parciálním tlaku CO_2 je použita skleněná elektroda a následně je testována možnost použití ISFET pH senzoru k měření změn pH. Elektrické výstupy budou vyhodnocovány prostřednictvím jednotky kapesního pH metru WTW pH3310, ke kterému lze připojit skleněnou elektrodu a provádět měření pH s přesností $\pm 0,005$ pH. Při měření teploty pomocí teplotního čidla zabudovaného ve skleněné elektrodě lze měřit teplotu měřeného roztoku v rozsahu -5 až +105 °C s přesností $\pm 0,1$ °C. Hlavní výhodou tohoto přístroje je možnost propojení s PC a automatického odesílání naměřených dat s volitelnou frekvencí odebrání vzorků.

Skleněnou pH elektrodu, ISFET senzor a pH metr WTW3310 je možné vidět na následujícím obrázku.



ISFET



Skleněná pH



Obrázek 46: pH metr WTW s pH elektrodami

Plyny CO₂ a vzduch

Směs plynů je připravována mícháním jejich příslušných objemových průtoků z tlakových lahví společnosti MESSER technogass s pomocí dvoustavových redukčních ventilů.

Chemikálie pro přípravu elektrolytu

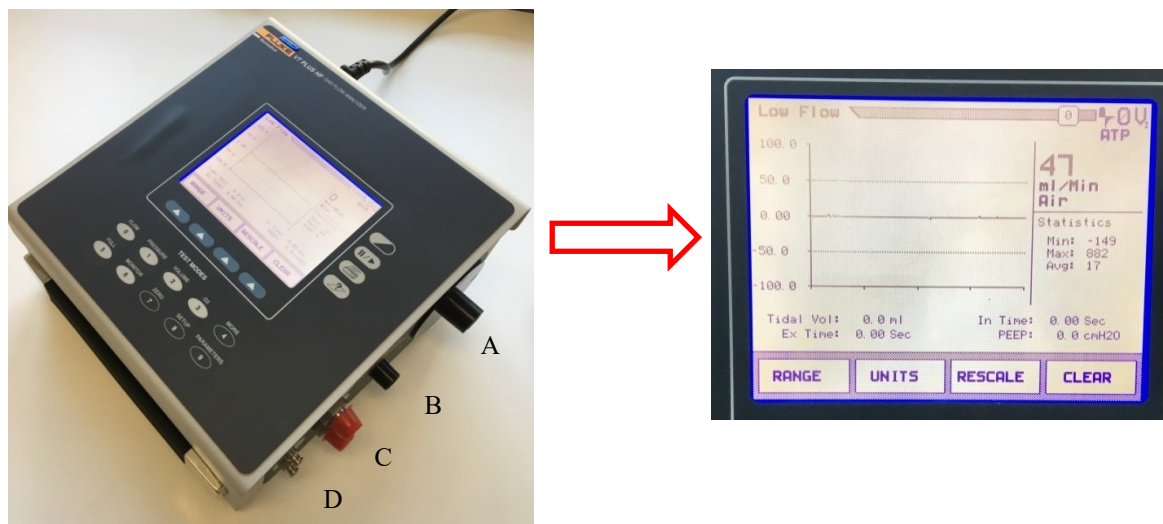
Pro přípravu elektrolytu byly použity následující chemikálie vyráběné firmou MACH CHEMIKÁLIE (Ostrava). Všechny chemikálie jsou v čistotě p.a. a jedná se o:

- Hydrogenuhličitan sodný - NaHCO₃
- Uhličitan sodný - Na₂CO₃
- Chlorid sodný - NaCl

Analyzátor průtoků FLUKE VT PLUS HF

Analyzátor průtoků FLUKE je primárně přístroj určený k testování průtoků u patientských ventilátorů. Umožňuje měřit jak vysoké, tak nízké průtoky a změřenou hodnotu ukazuje na displeji. Nízké průtoky plynů je schopný měřit v rozsahu -25 l/min až +25 l/min s přesností ± 2 % ze změřené hodnoty a ± 1 % z rozsahu, podle toho, která hodnota je vyšší. Plyny u nichž je předpokládán vyšší průtok se připojují do portu A. Přístroj je schopný v tomto režimu měřit průtoky -300 l/min až +300 l/min s přesností ± 2 % ze změřené hodnoty a ± 2 % z rozsahu, podle toho, která hodnota je vyšší. V této práci byl analyzátor FLUKE využit ke kalibraci průtokoměrů s průtoky od 10 ml/min

do 110 ml/min a výstup průtokoměru byl zapojen do vstupu B z hlediska nižší chyby přístroje při měření nižších průtoků na tomto vstupu. Pro velmi nízké hodnoty průtoků pod 10 ml/min jej bohužel nebylo možné použít a musel být použit bublinový flowmeter. Přístroj FLUKE VT PLUS HF je na následujícím obrázku.

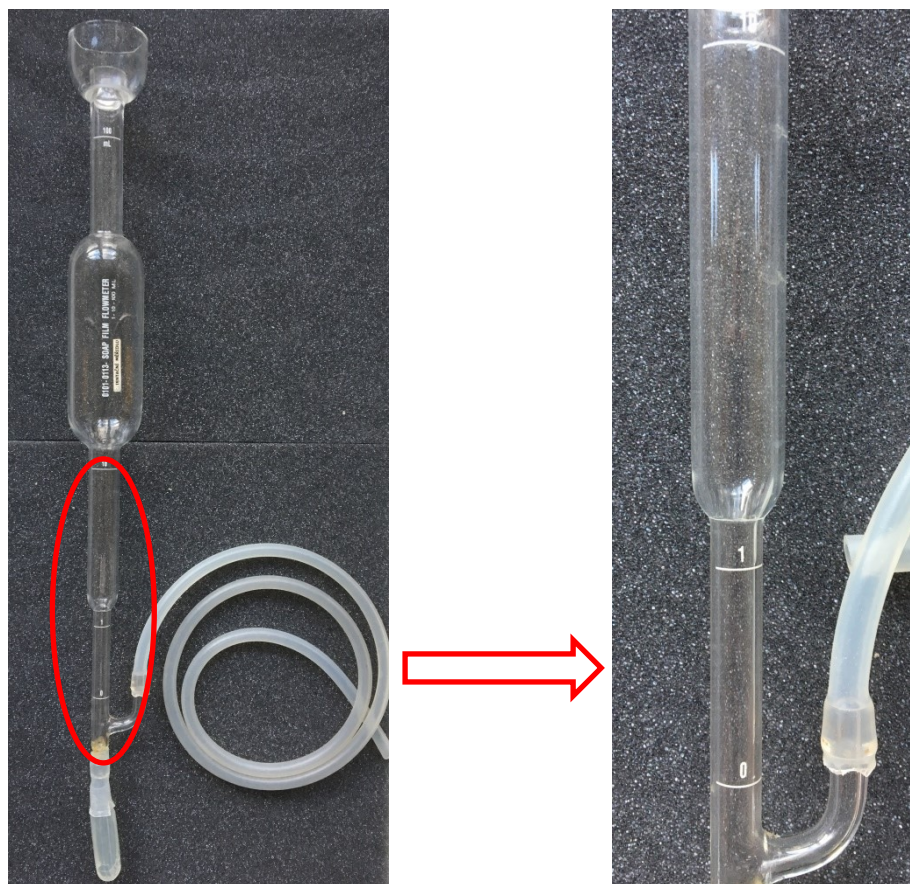


Obrázek 47: Tester patientských ventilátorů FLUKE VT PLUS HF s detailem displeje, A-vstup pro měření vysokých průtoků, B – vstup pro měření nízkých průtoků, C – vstup pro měření vysokých tlaků medicínských plynů nebo kapalin, D – vstup ro měření nízkých tlaků medicínských plynů nebo kapalin

Kalibrátor průtoků - skleněný bublinový flowmeter

Protože analyzátořem průtoků FLUKE nebylo možné provést kalibraci pro požadované nízké hodnoty průtoků nastavených na průtokoměrech a bylo třeba průtokoměry zkalibrovat v celém rozsahu, zejména v nízkých hodnotách průtoků, byl pro přesné měření obzvláště malých průtoků použit bublinový mýdlový flowmeter. Jedná se o skleněnou trubici s ryskami a malým balonkem, který je naplněn mýdlovým roztokem. V balonku se vytvoří bublina, která je nabrána v bočním rameni průtokem plynu a posouvá se vzhůru ve skleněné trubici. Na této trubici je možno vidět několik rysek – rysku nulovou, rysky pro celkové objemy 1,10 a 100 ml. Z času, za který tato bublina vystoupá vzdálenost mezi počáteční a konečnou ryskou představující přesný objem, lze dopočítat hodnotu průtoku přiváděného plynu.

Pomocí tohoto zařízení byla provedena kalibrace průtokoměrů v kapitole 4.2.6.

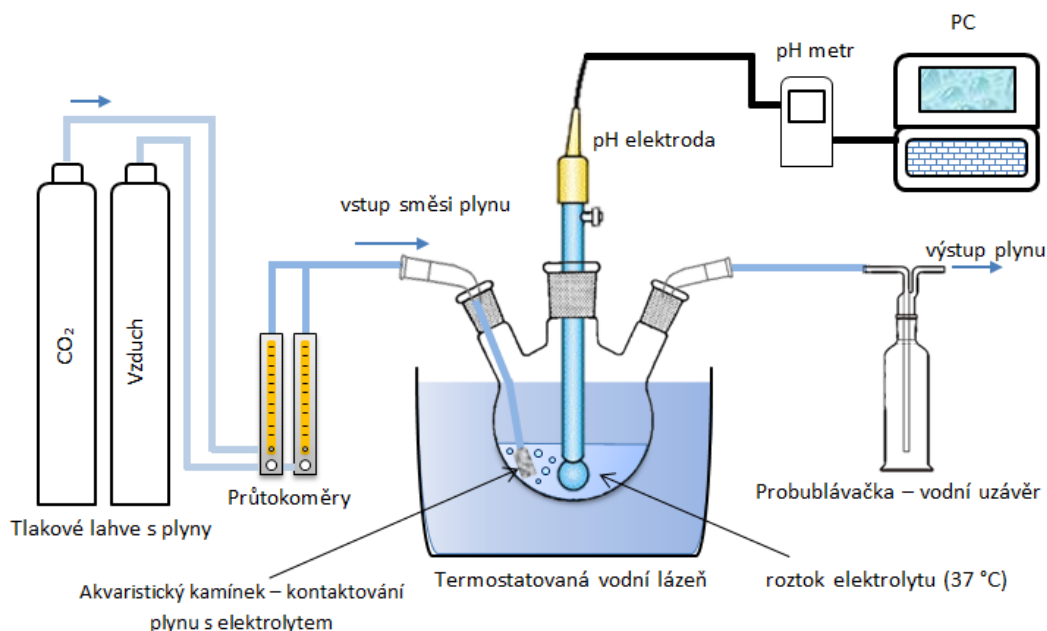


Obrázek 48: Skleněný bublinový flowmeter s detailem cejchované stupnice

Výše uvedené vybavení je základem pro konstrukci experimentálního modelu a pro definování přesného nastavení jednotlivých komponent.

4.2.2 Konstrukce experimentální aparatury

K provedení modelového experimentu simulujícího kompartment syndrom byla sestavena měřicí experimentální aparatura, která je přehledně zobrazena na následujícím schématu:



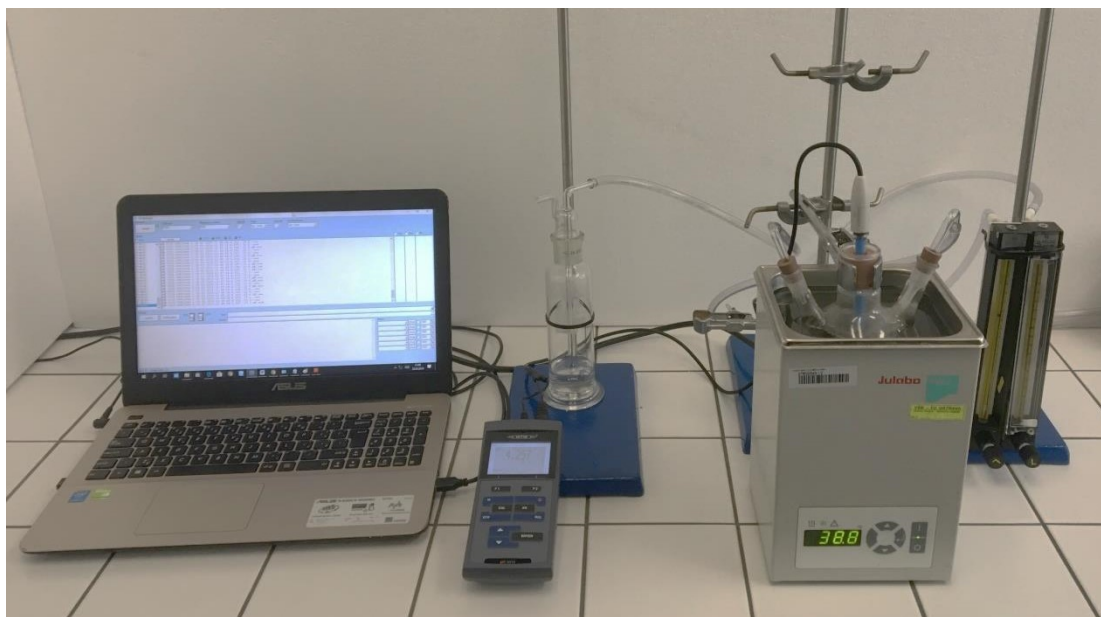
Obrázek 49: Koncepce sestavení vybavení pro model kompartment syndromu

Trojhrdlá baňka naplněná elektrolytem o specifickém složení a vodní uzávěr tvoří model elektrolytu čidla přiloženého na kůži končetiny s rizikem výskytu kompartment syndromu.

Do této baňky představující elektrolyt senzoru vstupuje směs plynu, která je míchána pomocí regulátorů průtoku. Konkrétně se jedná o směs CO_2 a vzduchu, kterou je možno simulovat zvýšený parciální tlak CO_2 vyskytující se v postižené tkáni, který proniká kůží. Objemovým podílem těchto složek, se zohledněním okolního tlaku, je totiž možno parciální tlak pCO_2 modelovat. Množství prostupujícího CO_2 ve formě jemných bublin akvaristického vzduchovacího kamene způsobuje změny v pH roztoku elektrolytu, které registruje zavedená pH sonda. Ta je připojena k vyhodnocovací jednotce, která sbírá naměřená data v reálném čase a zasílá je do PC k následujícímu vyhodnocení a zpracování. Výsledkem zpracování je závislost, jakým způsobem se projeví změna parciálního tlaku CO_2 na pH. Protože má celý modelový systém simulovat chování v lidské tkáni postižené kompartment syndromem, je potřebné, aby byl modelový systém termostatován. Protože se problémy s kompartment syndromem registrovaly při mírně zvýšené teplotě, požadovaná teplota byla zvolena na 37°C . Kontrola ohřevu je zajištěna externím případně implementovaným termočlánkem uvnitř sondy do roztoku elektrolytu.

Vodní uzávěr, zařazený na konec aparatury, slouží především k udržení konstantního tlaku uvnitř baňky - zavedení hadiček a vybavení do baňky musí být vzduchotěsné, aby měl připravovaný míchaný plyn nad kapalinou požadované složení.

Reálný pohled na sestavenou aparaturu je na následujícím obrázku.



Obrázek 50: Celková konstrukce experimentální aparatury

4.2.3 Příprava roztoku elektrolytu

Měření v modelovém systému CO_2 – vzduch je realizováno v prostředí elektrolytu o specifickém složení, ve kterém dochází k sycení vhněnou směsí plynu. Složení elektrolytu určuje závislost změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$, představující koncentraci rozpuštěného CO_2 .

Závislost pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ byla testována ve dvou elektrolytech:

První připravovaný elektrolyt se skládá z $0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaHCO}_3$ (hydrogen uhličitán sodný) a $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaCl}$ (chlorid sodný). Elektrolyt o stejném složení se využívá v Severinghausově $p\text{CO}_2$ elektrodě, kde dochází ke změnám pH v elektrolytu v závislosti na množství rozpuštěného CO_2 , který difunduje přes teflonovou membránu z analyzovaného krevního vzorku.

Aby bylo možné připravit elektrolyt o přesné koncentraci obou látek, je nutné vypočítat jejich hmotnosti v připravovaném objemu roztoku 2000 ml, kde dojde k jejich rozpuštění. Výpočet vychází z uvedeného vzorce:

$$c = \frac{n}{V} = \frac{\frac{m}{M}}{\frac{V}{1}} = \frac{m}{M \cdot V} \quad (13)$$

Kde: c – koncentrace [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$]
 n – látkové množství [mol]
 V – objem celkového roztoku [dm^3]
 m – hmotnost [g]

Následně lze pro výpočet vyjádřit hmotnost m a upravit rovnici do následujícího tvaru:

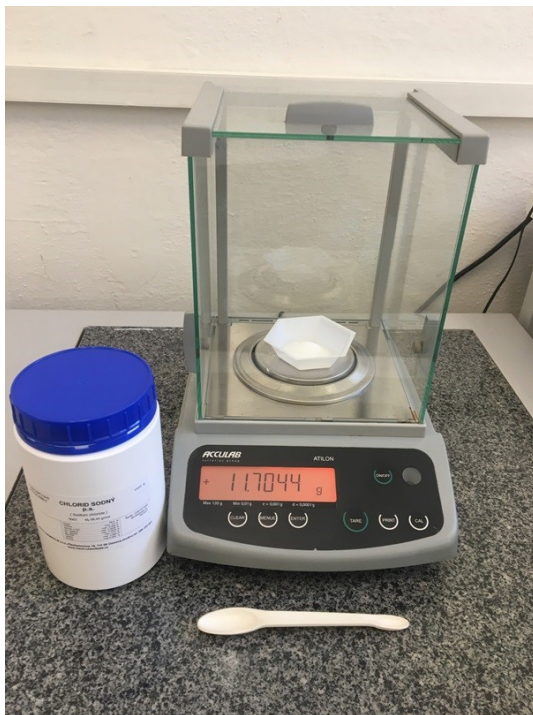
$$m = c \cdot M \cdot V \quad (14)$$

Molární hmotnost NaHCO_3 je $84,007 \text{ g/mol}$ a molární hmotnost NaCl je $58,44 \text{ g/mol}$. Po číselném dosazení těchto hodnot, objemu připravovaného roztoku 2 dm^3 (objem použité odměrné baňky) a hodnot požadované koncentrace jsou hmotnosti jednotlivých složek následující:

$$m_{\text{NaHCO}_3} = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot 84,007 \cdot \text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 2 \cdot \text{dm}^3 = \underline{\underline{1,68 \text{ g}}}$$

$$m_{\text{NaCl}} = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot 58,44 \cdot \text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 2 \cdot \text{dm}^3 = \underline{\underline{11,7 \text{ g}}}$$

Vypočítané hmotnosti se odváží na přesné laboratorní váze ACCULAB ATILON, kterou je možno vážit s přesností na čtyři desetinná místa:



Obrázek 51: Odvážení látek pro přípravu elektrolytu - laboratorní váha ACCULAB

Po odvážení jsou látky rozpuštěny v malém množství destilované vody v kádince. Koncentrát elektrolytu z kádinky je nutné kvantitativně převést do cejkované odměrné baňky o objemu 2 dm^3 a dolít destilovanou vodou do celkového objemu tak, aby se spodní hrana menisku (deformovaná hladina kapaliny do písmene U smáčející stěny nádoby vlivem povrchového napětí) dotýkala rysky.

Složení druhého testovaného elektrolytu se mírně liší; je tvořen $0,008 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaHCO}_3$, $0,002 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ Na}_2\text{CO}_3$ (uhličitan sodný s molární hmotností $M = 105,99 \text{ g/mol}$) a $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaCl}$. Předpokládá se, že modifikace původního elektrolytu by mohla zajistit větší strmost sledované závislosti pH na parciálním tlaku CO_2 než závislost získaná měřením v předchozím elektrolytu.

Výpočet jednotlivých hmotností pro celkový objem 2 dm^3 byl vypočten obdobným způsobem jako pro první elektrolyt dosazením do rovnice (14).

$$m_{\text{NaHCO}_3} = 0,008 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot 84,007 \cdot \text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 2 \cdot \text{dm}^3 = \underline{\underline{1,34 \text{ g}}}$$

$$m_{\text{Na}_2\text{CO}_3} = 0,002 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot 105,99 \cdot \text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 2 \cdot \text{dm}^3 = \underline{\underline{0,42 \text{ g}}}$$

$$m_{\text{NaCl}} = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot 58,44 \cdot \text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 2 \cdot \text{dm}^3 = \underline{\underline{11,7 \text{ g}}}$$

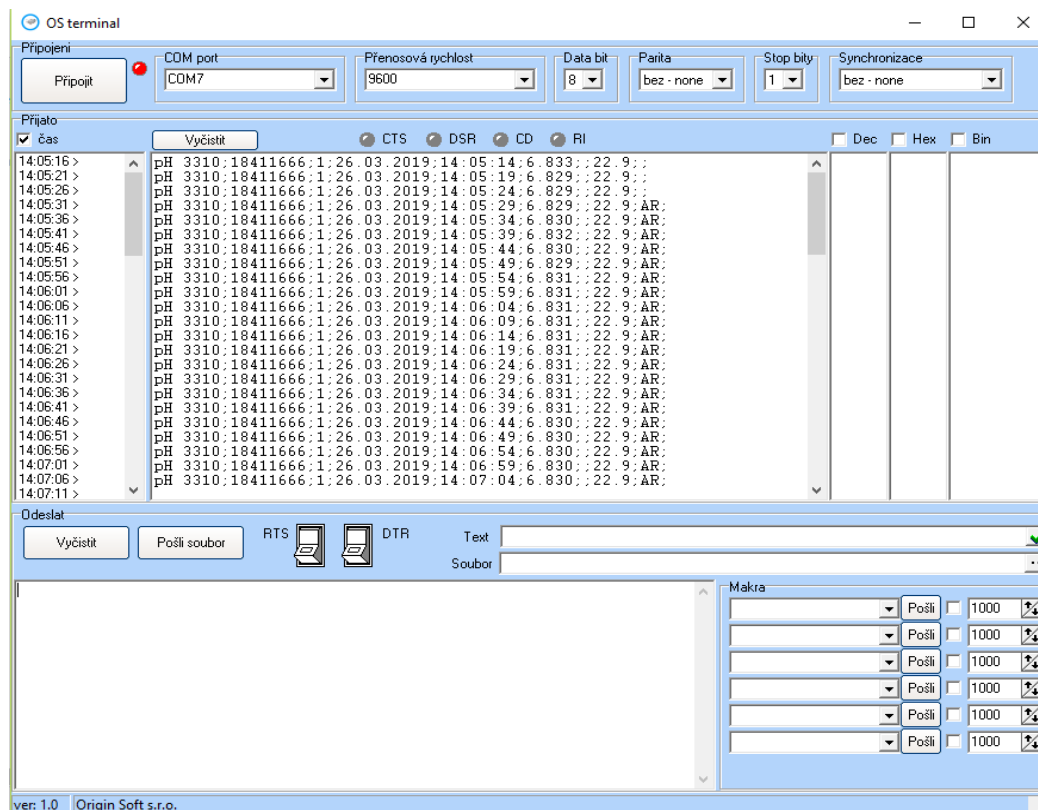
Tyto hmotnosti jednotlivých složek elektrolytu byly opět odváženy na přesné laboratorní váze a stejným způsobem jako u prvního elektrolytu rozpuštěny do cejchované odměrné baňky o objemu 2 dm^3 .

Připravené roztoky elektrolytů byly použity pro měření pomocí zvolené pH sondy. Nejprve byla závislost pH na pCO_2 měřena v modelovém systému kompartment syndromu CO_2 – vzduch klasickou skleněnou elektrodou a následně pomocí ISFET senzoru, s cílem ověřit, zda je ISFET pH senzor vhodným senzorem na případnou neinvazivní diagnostiku CS. Aby bylo možné změřit hodnotu pH a zjistit tak závislost pH na parciálním tlaku pCO_2 , bylo nutné připravit pH metr pro online automatický sběr dat prostřednictvím PC a zkalibrovat jej s příslušnou skleněnou elektrodou.

4.2.4 Měření pH – sběr a vyhodnocení dat pH metru WTW

Z dosavadních výsledků je možno přistoupit k dalšímu kroku, jímž je měření změn pH v elektrolytu v důsledku změn objemových průtoků plynů, jejichž poměr definuje intramuskulární tlak uvnitř tkáně, který způsobuje ischemii a následné změny parciálních tlaků uvnitř postižené končetiny v průběhu CS. Pro vyhodnocení signálu přijímaného ze skleněné elektrody je použit pH metr WTW pH3310. Tento přístroj lze propojit s PC přes rozhraní USB, což umožňuje online sběr dat v reálném čase. Pro shromažďování dat byl použit volně dostupný software OS terminal. Tento software pracuje na principu terminálového emulátoru. Po zvolení COM portu, na který je přístroj připojen a nastavení parametrů přenosu, jako je přenosová rychlost, délka paketu dat a paritní bity, je možné zahájit komunikaci tlačítkem připojit. Uvedené parametry je také možné nastavit v setup menu pH metru. Výsledkem komunikace je posílání naměřených hodnot z pH metru do sběrného terminálu nainstalovaného v PC. Přijímaná data obsahují informace o typu měřicího přístroje, jeho sériového čísla, dále pak nastavitelné ID dat, datum, čas, hodnotu pH, teplotu měřenou zabudovaným čidlem uvnitř elektrody a informace o ustálení hodnoty pH v měřeném vzorku.

Jednotlivá data jsou mezi sebou oddělena středníkem. Screenshot softwaru ukazující formát naměřených dat je možné vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 52: Software OS terminal pro příjem naměřených dat pomocí pH metru WTW

Po ukončení měření je nutné naměřená data z výše zmíněného softwaru uložit do textového souboru. Následně je možné k jejich zpracování využít programové prostředí MS EXCEL, kde je možné textový soubor terminálu importovat.

Doporučený software výrobcem pH metru pro komunikaci s PC nebylo možné použít. Proto byl nahrazen volně dostupným softwarem, který je zmíněn výše. Propojení pH metru s PC značně usnadňuje další práci s naměřenými daty a není zapotřebí hodnoty pH odečítat v časových intervalech ručně.

Pro přesné stanovení hodnoty pH pomocí skleněné pH elektrody připojené k pH metru je nutné před měřením přístroj zkalibrovat. Jedině tak lze dosáhnout přesných a nezkreslených výsledků při měření.

4.2.5 Kalibrace pH metru

Používané pH elektrody v průběhu času „stárnou“ - mění své elektrochemické vlastnosti. Tento jev má vliv na asymetrii (nulový bod) a strmost kalibrační křivky pH elektrody. Výsledkem toho je větší odchylka naměřené hodnoty od reálné hodnoty pH. Pravidelně prováděnou kalibrací je možné tyto odchylky korigovat a uložit je do paměti přístroje. Kalibrovat je potřeba v pravidelných časových intervalech. Tento interval je možné nastavit v setupu přístroje a je volen uživatelem podle požadované přesnosti měření. Dále je výrobcem doporučeno provést kalibraci při prvním připojení nebo výměně použité pH elektrody. Ke kalibraci jsou využívány speciální roztoky o přesně daném pH – pufry. Ty jsou většinou dodávány spolu s přístrojem a po jejich spotřebování je možné je zakoupit jako volitelné příslušenství.

Kalibrační pufry včetně celé sestavy pH metru je možné vidět na následujícím obrázku:



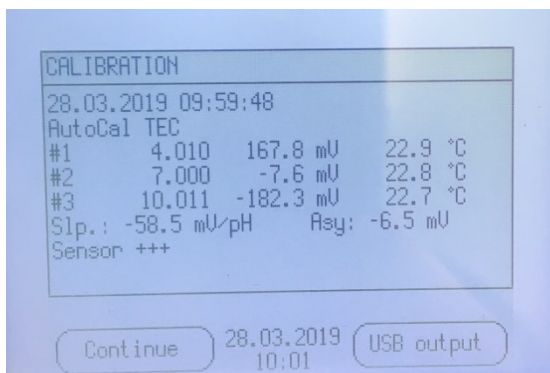
Obrázek 53: Kalibrační pufry a sestava pH metru

Kalibrační proceduru přístroje WTW pH3310 je možné rozdělit do následujících kroků:

1. Připojení pH elektrody při vypnutém přístroji
2. Zapnutí pH metru
3. Volba měřené veličiny pH tlačítkem M
4. Zahájení kalibrace tlačítkem CAL
5. Omytí pH elektrody destilovanou vodou a její dobré usušení filtračním papírem
6. Ponoření pH elektrody do prvního pufry
 - použité pufry musí pomocí jejich hodnoty pH tvořit vzestupnou nebo sestupnou řadu
7. Start kalibrace stisknutím tlačítka ENTER
8. Ukončení měření pH kalibračního bodu je indikováno zvukovým signálem
9. Omytí pH elektrody destilovanou vodou a její dobré usušení filtračním papírem

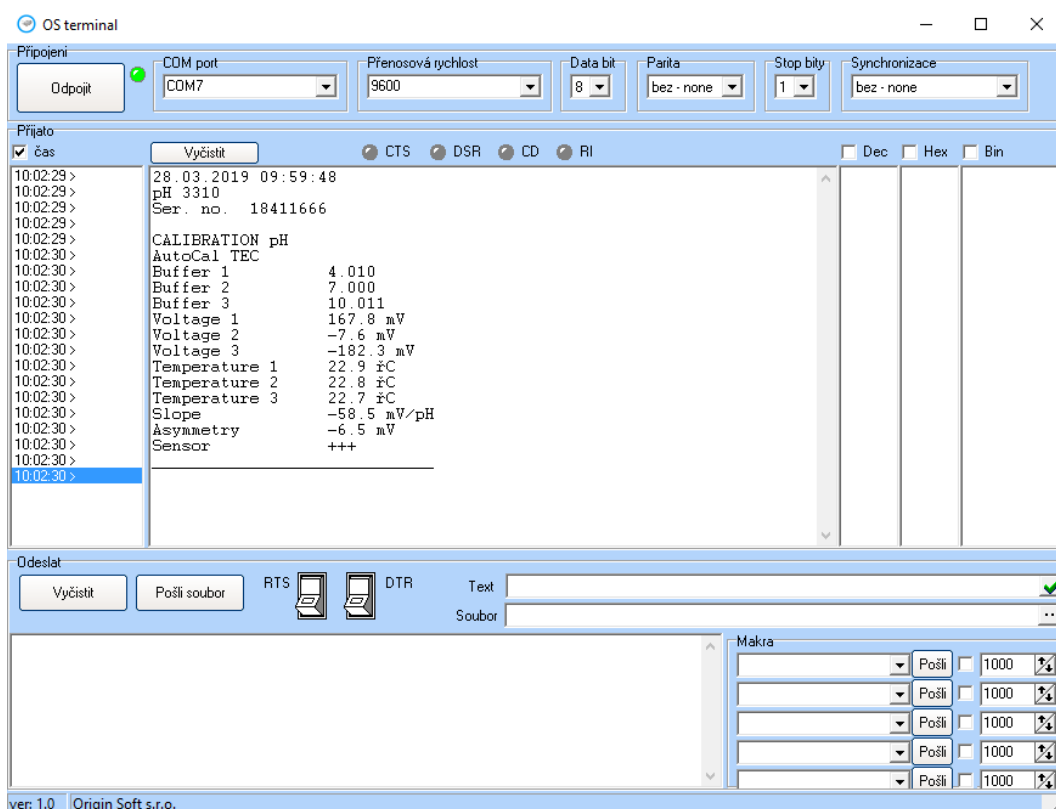
10. V případě více bodové kalibrace se opakuje krok umístění elektrody do pufru; mezi jednotlivými pufrů není třeba manuálně tisknout žádné tlačítko, měřicí přístroj pozná změnu pufru automaticky
11. Ukončení kalibrace stiskem tlačítka M a zobrazení kalibračního protokolu na displeji přístroje

Kalibrační protokol zobrazený na displeji přístroje je vidět na následujícím obrázku:



Obrázek 54: Kalibrační protokol zobrazený na displeji přístroje

Kalibrační protokol je možné manuálně odeslat i do programového prostředí OS terminálu k archivaci, jak je možné vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 55: Kalibrační protokol v programovém prostředí komunikátoru

V tomto dílčím kroku byl kompletně zprovozněn pH metr se skleněnou elektrodou. V tuto chvíli je možné s takto připraveným zařízením zahájit samotné měření. Před započítáním měření v experimentální aparatuře je ovšem nutné provést další kroky, které povedou k odladění celého systému a k úspěšné simulaci kompartment syndromu.

4.2.6 Stanovení podmínek experimentu

Pro navržení vhodné experimentální procedury je nutné se zabývat následujícími faktory:

- Zvolení maximálního průtoku směsi plynu s ohledem na geometrické rozměry trojhrdlé baňky
- Stanovení rychlosti ohřevu elektrolytu ve vodní lázni s určením doby, po které má již elektrolyt požadovanou teplotu
- Ověření teplotní stability elektrolytu s určením rozsahu kolísání teplot okolo požadované hodnoty
- Proměření kalibračních křivek průtokoměrů pro nastavení požadovaného testovaného objemového zlomku oxidu uhličitého ve směsi se vzduchem
- Zjištění rychlosti ustavování hodnot pH při změně objemového zlomku oxidu uhličitého se snahou najít dobu, po které bude možné odečíst výslednou stabilní hodnotu pH.

Detailněji jsou jednotlivé body této problematiky rozpracovány v následujících kapitolách.

4.2.6.1 Stanovení maximálního průtoku směsi plynu

Celkový průtok směsi plynů ovlivňuje rychlost ustálení rovnováhy v elektrolytu uvnitř baňky. To znamená, že při větším celkovém průtoku dojde k rychlejšímu ustavení rovnováhy a bude zkrácena doba, kdy je možné odečíst změřenou hodnotu pH. S vyšší hodnotou průtoku ovšem dochází k vyššímu odchodu vodních par a elektrolyt je postupně zahušťován, přičemž se mění jeho složení a chemické vlastnosti. Z tohoto důvodu bylo nutné nalézt kompromis ve volbě celkového průtoku, aby nedocházelo k výrazným změnám složení elektrolytu a doba ustavení rovnováhy nebyla příliš dlouhá.

Experimentálně byl hledán vhodný celkový průtok plynu, který by mohl být použit při realizaci experimentu. Byly vyhodnocovány průtoky 50, 100, 200, 1300 a 2300 ml/min. Dokumentační fotografie jednotlivých testovaných průtoků jsou uvedeny na obrázcích níže.

Na fotografiích níže je zobrazeno vhánění směsi plynu do baňky s elektrolytem pro celkový průtok 50 ml/min a 100 ml/min.



*Obrázek 56: Stanovení celkového průtoku směsi plynu
průtok 50 ml/min vlevo a průtok 100 ml/min vpravo*

Dále byly odzkoušeny průtoky 200 ml/min, 1300 ml/min a 2300 ml/min. Fotografie z tohoto experimentu jsou zobrazeny na následujících fotografiích.



*Obrázek 57: Stanovení celkového průtoku směsi plynu
průtok 200 ml/min vlevo, průtok 1300 ml/min uprostřed a průtok 2300 ml/min vpravo*

Z provedeného experimentu byl vybrán celkový průtok 50 ml/min jako nejvhodnější. Tento průtok je dostačující z hlediska sycení elektrolytu vřáněnou směsí plynu a zároveň je možné při tomto průtoku nastavit použité vybavení, respektive průtokoměry, podle potřeb míchání směsi plynu vzduchu a CO₂ v potřebném poměru. Jemné bublinky směsi plynu zajistí dostatečné kontaktování směsi plynu s kapalinou a nebudou ovlivňovat intoselektivní membrány použitých pH senzorů. Zároveň je možné realizovat delší měření díky malému odchodu vodních par z elektrolytu a spotřeba plynů není při tomto průtoku příliš vysoká.

4.2.6.2 Regulace teplot - teplotní gradienty termostatické lázně – lázeň – elektrolyt

Dle Henryho zákona závisí rozpustnost plynu v kapalině nepřímo úměrně na teplotě. Z tohoto důvodu je nutno provádět experimenty při konstantní teplotě. U pacientů s kompartment syndromem se dle provedené literární rešerše pohybuje teplota těla okolo 37 °C. Z tohoto důvodu byl kladen požadavek zahřívát modelový systém kompartment syndromu při experimentu na tuto teplotu.

Pro dosažení teploty byla použita termostatovaná vodní lázeň Julabo, která umožňuje nastavení požadované teploty s přesností na desetinu stupně Celsia. Předpokládá se teplotní gradient mezi nastavenou teplotou na regulátoru a teplotou elektrolytu v tříhrdlé baňce. Pro zjištění tohoto gradientu bylo prováděno měření teplot elektrolytu pro volenou teplotu nastavovanou na regulátoru. Naměřené teploty pro jednotlivé zvolené teploty je možné vidět v následující tabulce:

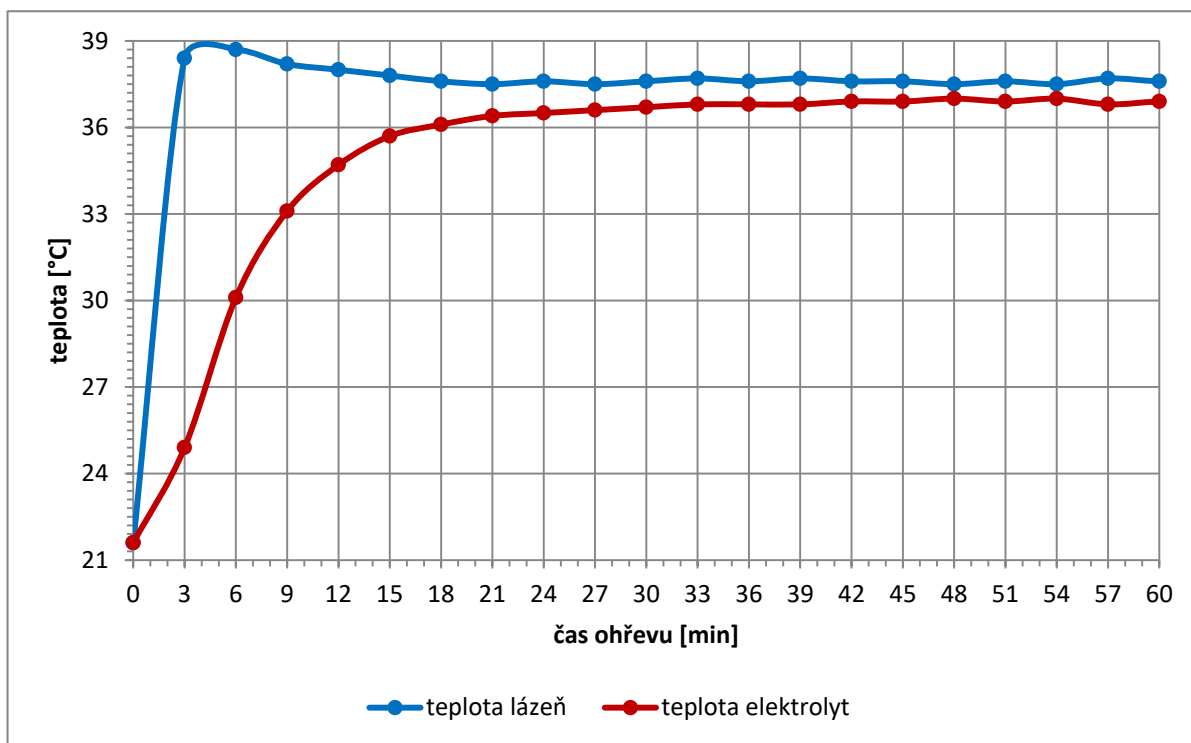
Tabulka 7: Teplota elektrolytu v závislosti na nastavené teplotě vodní lázně (bez míchání)

Nastavená teplota	Teplota lázně	Teplota elektrolytu
[°C]	[°C]	[°C]
37,0	36,2	35,8
38,2	37,8	36,9
38,3	37,9	37,1

Pro prvotní nastavenou teplotu 37°C byl zjištěný teplotní gradient 1,2 °C vůči teplotě elektrolytu. Proto byla v druhém kroku o tento teplotní gradient zvýšena nastavovaná teplota. Jak je zřejmé z tabulky výše, teplota v elektrolytu byla o 0,1 °C nižší, než teplota požadovaná. Další zvýšení teploty o 0,1 °C mělo za následek zvýšení teploty elektrolytu až na hodnotu 37,1 °C. Z výše uvedeného vyplývá, že pro dosažení teploty experimentu 37 °C bylo třeba nastavit na regulátoru teplotu 38,2 °C nebo 38,3 °C. Veškeré tyto experimenty byly prováděny bez probublávání směsi plynů. Při probublávání plynů se předpokládá lepší přestup tepla, proto byla v následujících experimentech nastavována a testována teplota 38,2 °C.

4.2.6.3 Dynamika teplotní regulace – teplotní stabilita lázně

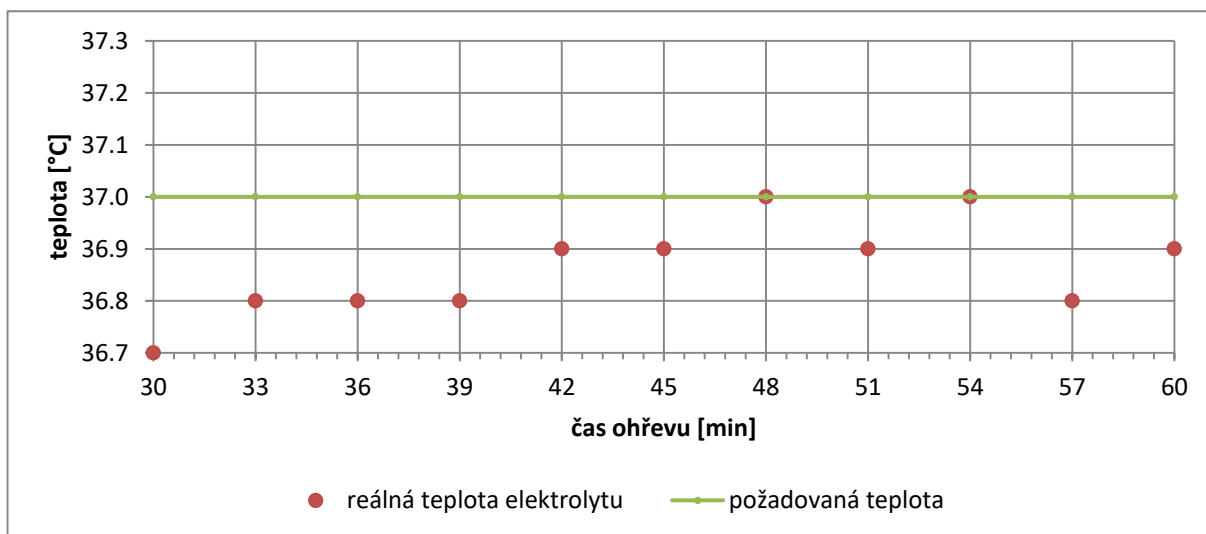
Pro určení experimentálních podmínek – doby k ustavení konstantní teploty elektrolytu je potřeba znát časový průběh teploty. Na následujícím obrázku jsou vykresleny teploty elektrolytu a teplosměrného média v lázni v závislosti na době od začátku ohřevu:



Obrázek 58: Teploty lázně a elektrolytu v závislosti na době ohřevu

Z grafu je patrné, že teploty elektrolytu a lázně mají mezi sebou velký teplotní gradient, obzvláště pro krátké doby ohřevu. Lázeň s teplosměrným médiem se na požadovanou teplotu vyhřeje velice rychle v časech cca. 10 minut, kdežto elektrolyt uvnitř baňky o objemu 500 ml dosahuje teploty 36,7 °C (0,3 °C gradient od požadované teploty) až po době cca 30 minut.

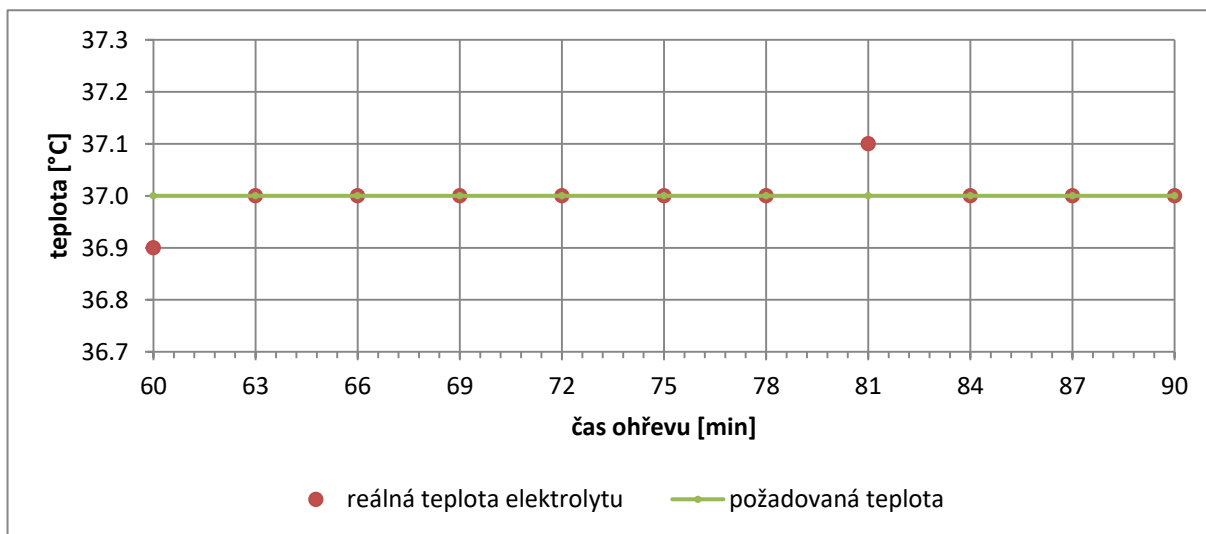
Detailnější teploty elektrolytu pro čas od 30 minut jsou uvedeny na následujícím obrázku:



Obrázek 59: Teplota elektrolytu po 30 minutách ohřevu

Z uvedeného obrázku je možné vidět, že teploty 37 °C dosáhne elektrolyt po době cca 50 minut, kdy dochází k oscilaci teploty kolem požadované hodnoty, přičemž teplotní gradient v této době nepřesahuje 0,2 °C. Z tohoto důvodu byla zvolena procedura statického ohřevu elektrolytu na dobu 60 minut.

Veškeré experimenty byly prováděny bez probublávání elektrolytu. Pro simulaci reálných podmínek experimentu byla testována dlouhodobá tepelná stabilita elektrolytu s probubláváním směsi plynů, které sice část tepla ze soustavy odvádějí, ale zlepšují přestup tepla nuceným mícháním elektrolytu. Časový průběh teploty elektrolytu po 60 minutách ohřevu po zahájení míchání plyny s celkovým průtokem 50 ml/min je vidět na následujícím obrázku:



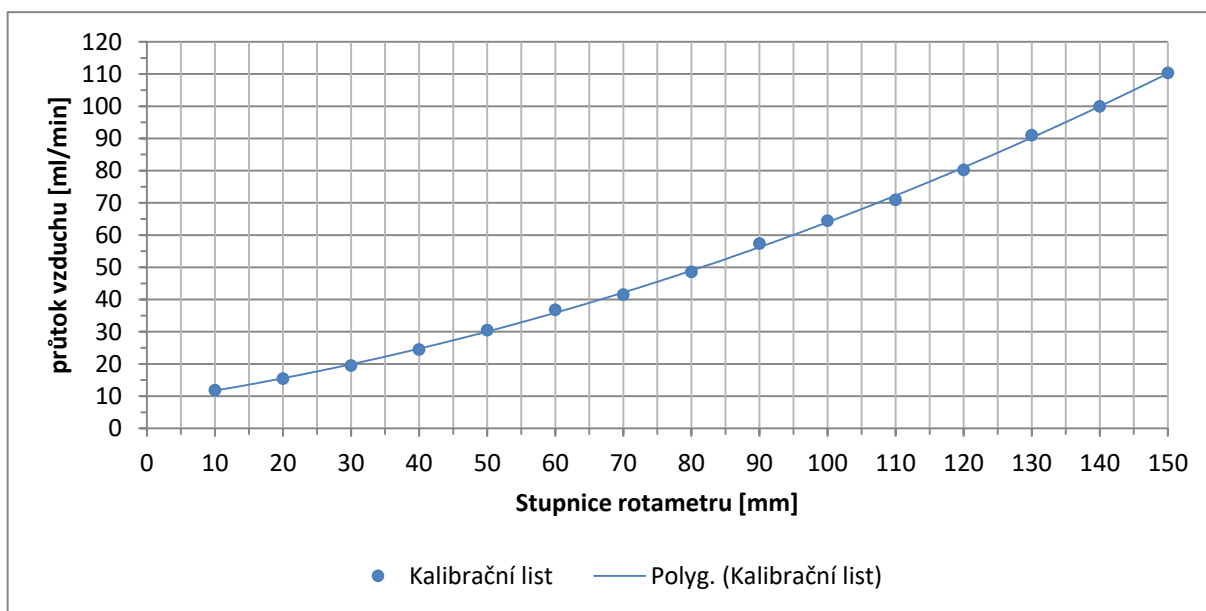
Obrázek 60: Teplotní stabilita elektrolytu v průběhu míchání

Z výše uvedeného obrázku je zřejmé, že elektrolyt má v průběhu míchání plynem výbornou tepelnou stabilitu a teplota po dobu měření nepřesáhla odchylku 0,1 °C od požadované hodnoty 37 °C.

Z výše provedeného měření vyplývá experimentální procedura pro ohřev modelového systému kompartment syndromu. Pro objem elektrolytu 500 ml je nutné ohřívat modelový systém pomocí vodní lázně nastavené na 38,2 °C po dobu 60 minut. Následně je možné zahájit probublávání elektrolytu směsí plynu s objemovým průtokem 50 ml/min, čímž dojde k ustálení teploty a lze zahájit měření závislosti pH na parciálním tlaku pCO₂. Aby bylo dosaženo přesného nastavení objemových průtoků CO₂ a vzduchu ve směsi plynu, při zachování celkového průtoku 50 ml/min, bylo nutné provést kalibraci průtokoměrů. Této problematice se věnuje následující kapitola.

4.2.6.4 Kalibrace průtokoměrů

Z důvodu dosažení přesného nastavení požadovaného parciálního tlaku pCO₂ uvnitř modelu simulujícího kompartment syndrom, který je regulován mícháním směsi plynu o definované objemové koncentraci CO₂ a vzduchu, bylo nutné provést kalibraci použitých průtokoměrů SUPELCO 503851. Tyto průtokoměry slouží k regulaci a měření průtoků plynů. K průtokoměrům byl k dispozici kalibrační list, který bylo třeba ověřit. Výrobce udává odchylky od kalibračního listu v rozmezí ±2 %. Pro reálné měření průtoků byl použit průtokoměr FLUKE. Hodnoty průtoků z kalibračního listu a hodnoty reálných průtoků v závislosti na cejkované stupnici je možno vidět na následujícím obrázku:

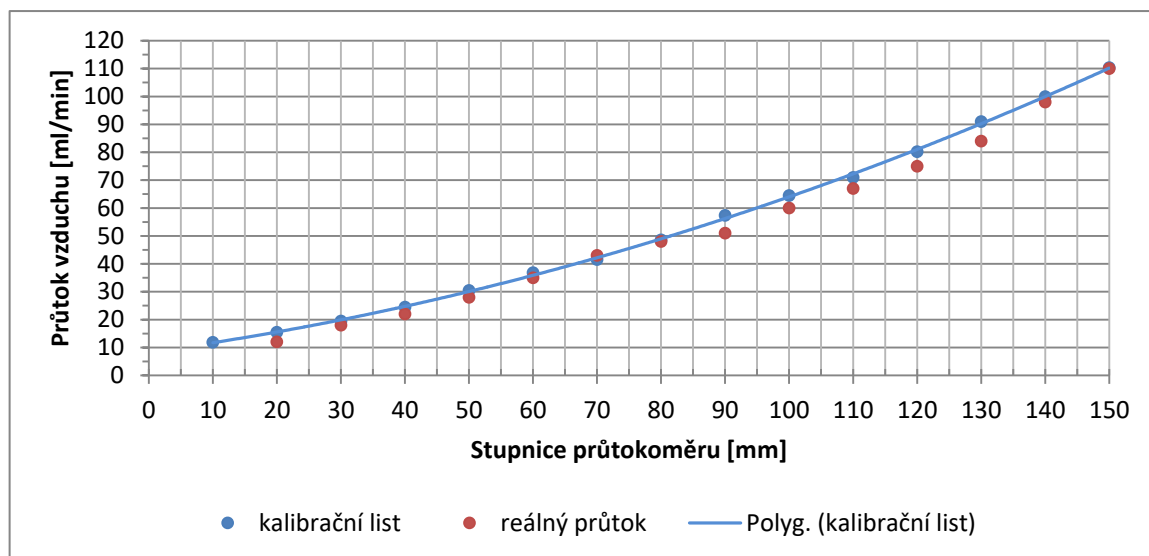


Obrázek 61: Hodnoty průtoků z kalibračního listu průtokoměru

Hodnoty grafu je možné proložit následujícím polynomem druhého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9996:

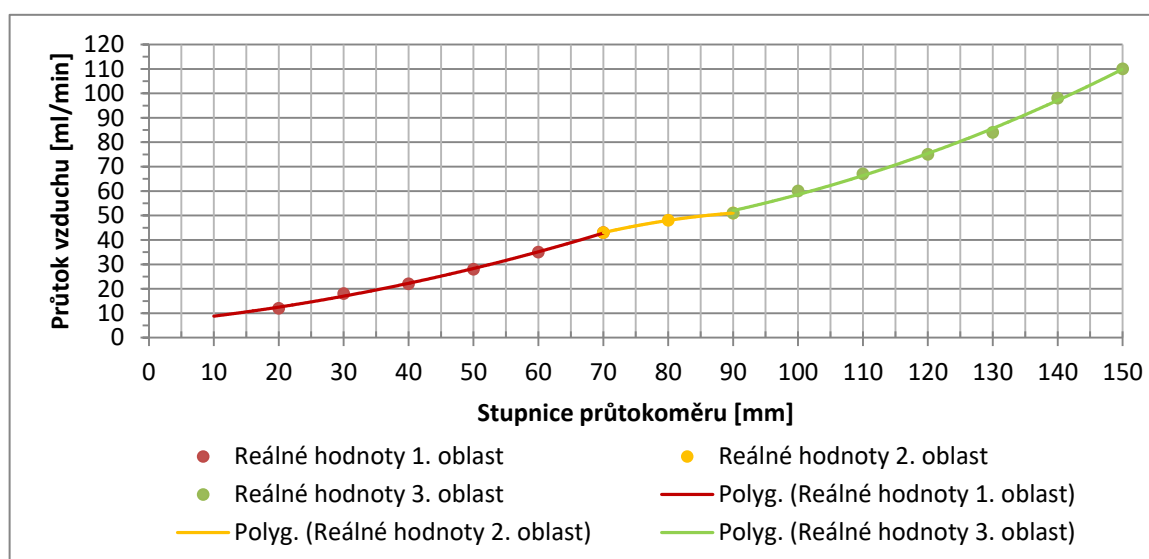
$$y = 0,0024x^2 + 0,3119x + 8,3485 \quad (15)$$

Reálně naměřené hodnoty průtoků jsou uvedeny na následujícím obrázku a vykazují odlišnost od kalibračního listu.



Obrázek 62: Odlišnost reálných průtoků od kalibračního listu

Reálně změřené hodnoty průtoků je možno rozdělit do tří oblastí, ve kterých je možné proložit hodnoty polynomem druhého stupně. Proložení hodnot je možno vidět na následujícím obrázku:



Obrázek 63: Reálné hodnoty průtoků s rozdělením do tří oblastí s proložením polynomickou křivkou

První oblast reálných hodnot průtoků, která je v rozmezí na stupnici rotametru 20 – 70 mm, je proložena následujícím polynomem druhého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9977:

$$y = 0,0039x^2 + 0,2521x + 5,8857 \quad (16)$$

Druhá oblast byla definována v rozmezí 70 – 90 mm na stupnici rotametru a platí pro ni následující rovnice polynomu druhého stupně s hodnotou spolehlivosti 1:

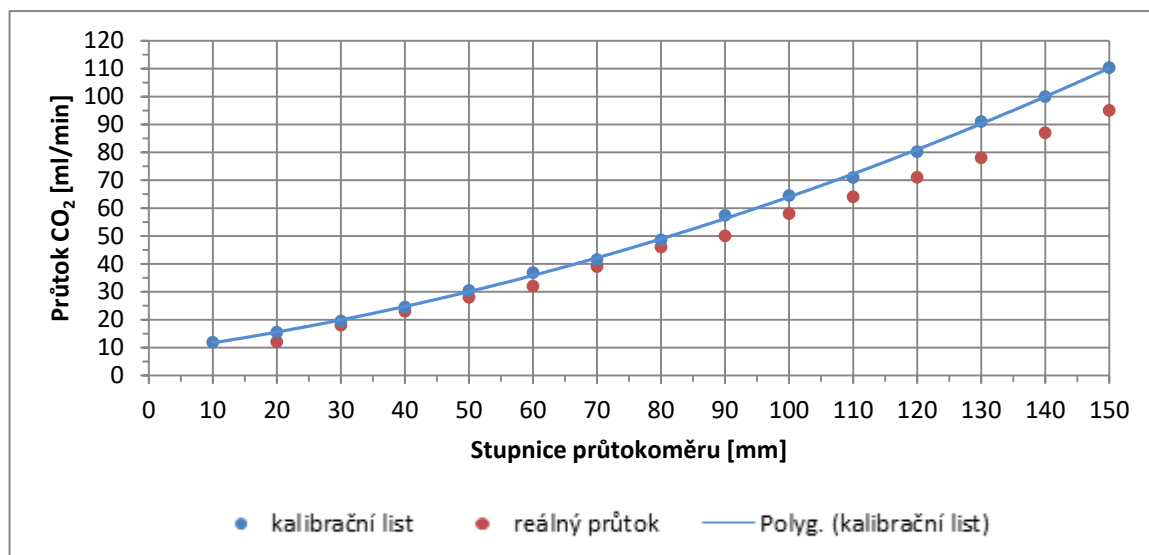
$$y = -0,01x^2 + 2x - 48 \quad (17)$$

Poslední třetí oblast zahrnuje hodnoty průtoků, které odpovídají na stupnici rotametru hodnotám 90 – 150 mm. Tyto hodnoty byly opět proloženy polynomem druhého řádu s následující rovnicí a hodnotou spolehlivosti 0,9973:

$$y = 0,0062x^2 - 0,5214x + 48,81 \quad (18)$$

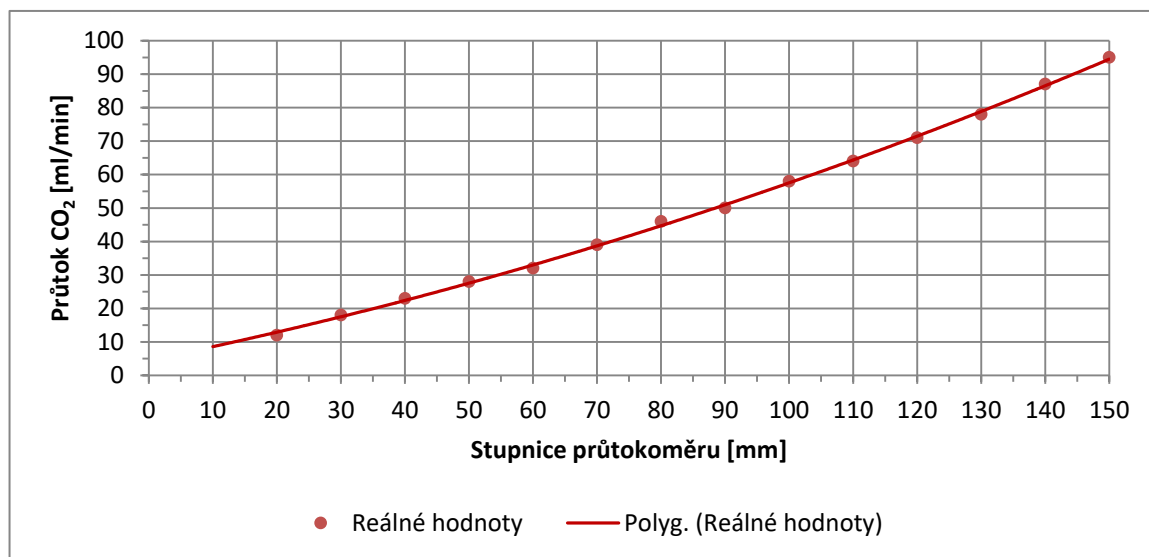
Obdobným způsobem byla provedena také kalibrace druhého rotametru pro plyn CO₂. Vzhledem k tomu, že oba rotametry jsou shodné, kalibrační list druhého rotametru odpovídá hodnotám průtoků, které jsou zobrazeny na *obrázku 61*.

Reálně naměřené hodnoty průtoků CO₂ jsou zobrazeny na následujícím obrázku a vykazují oproti hodnotám průtoků z kalibračního listu patrné odchylky.



Obrázek 64: Odlišnost reálných průtoků od kalibračního listu

Reálně naměřené hodnoty průtoků CO₂ lze proložit polynommem druhého řádu. Naměřené hodnoty průtoků proložené polynommem druhého řádu lze vidět na následujícím obrázku:

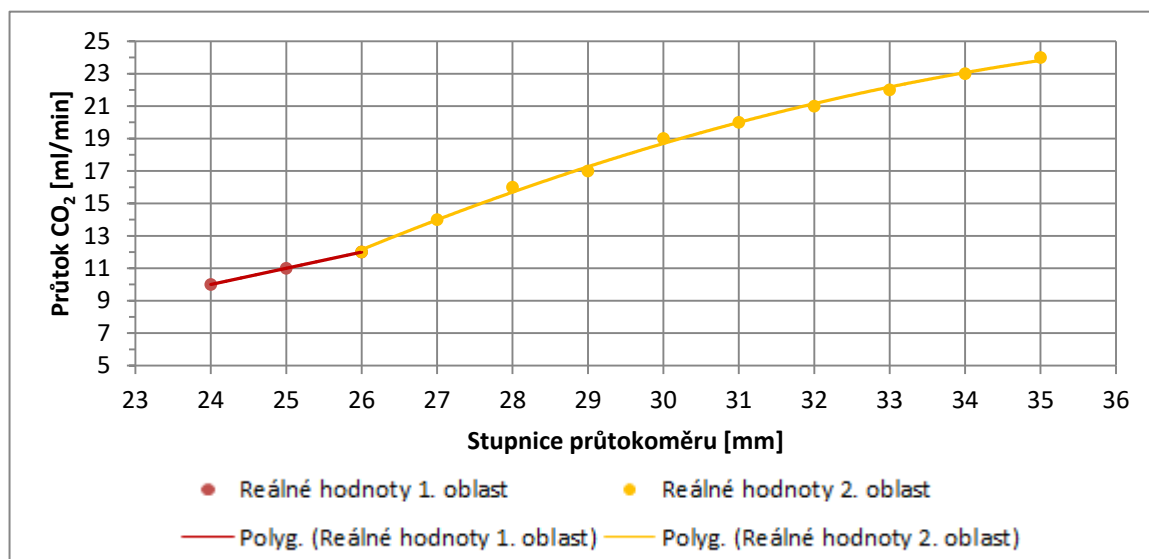


Obrázek 65: odlišnost reálných průtoků CO₂ od kalibračního listu

Naměřené hodnoty jsou proloženy polynommem druhého řádu, který je dán následující rovnicí s hodnotou spolehlivosti 0,9992:

$$y = 0,0014x^2 + 0,3905x + 4,544 \quad (19)$$

Vzhledem k tomu, že v požadované směsi plynu má být CO₂ zastoupeno v objemu 5 – 9 % celkového průtoku, je nutné proměřit kalibrační křivku v nízkých hodnotách průtoků. Změřené nízké hodnoty průtoků CO₂ je možné rozdělit na dvě oblasti, které lze proložit polynomy druhého stupně, jak je patrné z následujícího obrázku.



Obrázek 66: Reálné hodnoty průtoků CO₂ v nízké oblasti

První oblast naměřených hodnot průtoků je proložena polynomem druhého řádu s následující rovnicí s hodnotou spolehlivosti 1:

$$y = 1 \cdot 10^{-14}x^2 + 1x - 14 \quad (20)$$

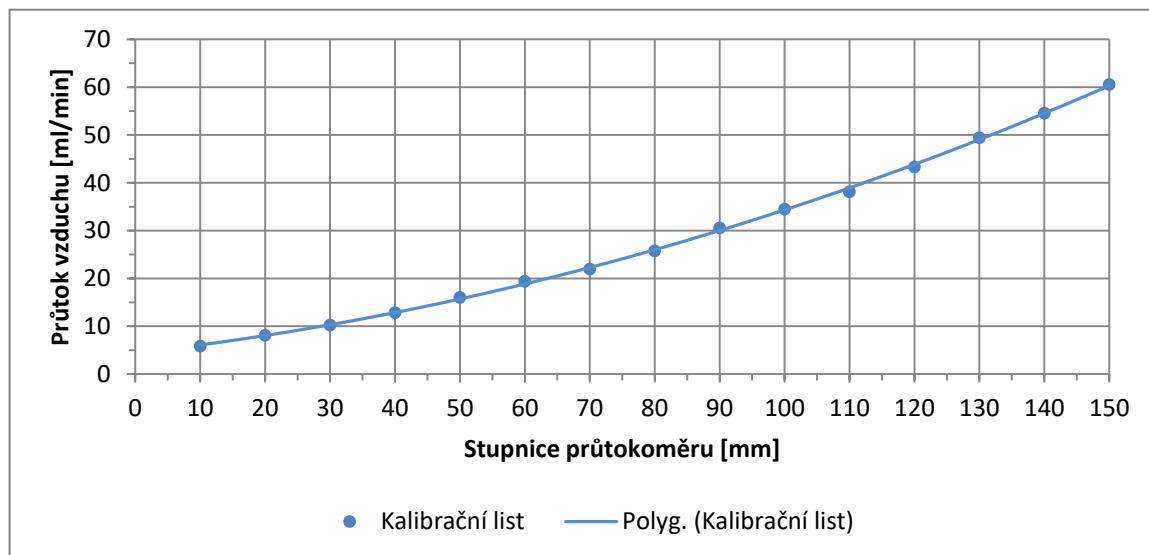
Druhá oblast změřených hodnot průtoků je proložena polynomem, kterému odpovídá tato rovnice s hodnotou spolehlivosti 0,9974:

$$y = -0,0682x^2 + 5,4561x - 83,621 \quad (21)$$

Z provedené kalibrace je patrné, že není možné s takto nastaveným průtokoměrem dosáhnout menšího průtoku než 10 ml/min. Toto nastavení průtokoměrů je možné využít pro míchání vyšších průtoků s vyšším podílem CO₂. Vzhledem k tomu, že vyhovující celkový průtok byl stanoven na hodnotu 50 ml/min a v tomto průtoku plynné směsi má být CO₂ zastoupeno v rozsahu 5 – 9 %, lze usoudit, že je nutné zvýšit celkový průtok, použít jiný průtokoměr nebo vyměnit kuličku uvnitř průtokoměru, která by změnila jeho rozsah.

V případě, že by došlo ke zvýšení celkového průtoku, lze jednoduše odvodit, že by se musel zvýšit čtyřnásobně, tedy na hodnotu 200 ml/min, aby bylo možné nastavit požadovaný objem plynů ve směsi. Tento krok ovšem není východisko, neboť z *obrázku 63* je patrné, že maximální průtok druhého průtokoměru pro vzduch je dle kalibrace pouze 110 ml/min. Je tedy nutné změnit rozsahy průtokoměrů použitím jiných kuliček ve stupnicích a provést kalibraci průtokoměrů pro změřené rozsahy.

V průtokoměru, kterým bude regulován průtok vzduchu, byla vyměněna kulička carboloy (0,25 g) za kuličku 316 stainless steel (0,13 g), tu je možné dokoupit k tomuto průtokoměru jako příslušenství. Tímto byl upraven rozsah průtokoměru a nově se dle kalibračního listu pohyboval v rozmezí 5,84 - 60,56 ml/min. Kalibrační křivku dle kalibračního listu výrobce je možné vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 67: Kalibrační list - vzduch (stainless steel kulička)

Hodnoty grafu je možné proložit následujícím polynomem druhého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9995:

$$y = 0,0015x^2 + 0,1521x + 4,4165 \quad (22)$$

Z důvodu ověření kalibrační křivky průtokoměru bylo provedeno měření průtoků pomocí skleněného bublinového flowmetru, který umožňoval měření času pohybu bubliny pro cejkované rysky odpovídajícím objemům 1, 10 a 100 ml. Reálně naměřené hodnoty průtoků vzduchu pro jednotlivá nastavení stupnice průtokoměru jsou uvedeny v následující tabulce (časy pohybu bubliny do průtoků do 31 ml/min byly měřeny na cejkovaném úseku 10 ml, vyšší průtoky na objemu 100 ml).

Tabulka 8: Reálné hodnoty průtoků vzduchu v závislosti na stupnici průtokoměru:

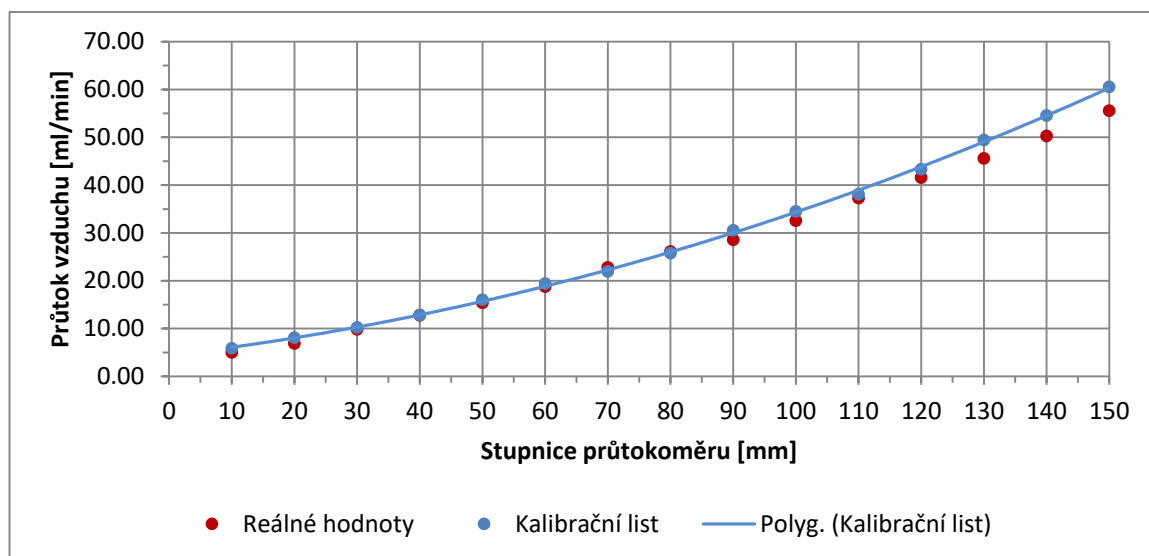
stupnice průtokoměru [mm]	kalibrační list	1. měření	2. měření	3. měření	průměrný čas	AVG průtok
	[ml/min]	čas [s]	čas [s]	čas [s]	čas [s]	[ml/min]
10	5.84	12	12	12	12.00	5.00
20	8.10	87	88	87	87.33	6.87
30	10.23	61	61	61	61.00	9.84
40	12.85	46	47	48	47.00	12.77
50	16.02	39	39	39	39.00	15.38
60	19.39	32	32	32	32.00	18.75
70	21.94	26	26	27	26.33	22.78
80	25.75	23	23	23	23.00	26.09
90	30.56	21	21	21	21.00	28.57
100	34.49	183	185	185	184.33	32.55
110	38.10	161	161	161	161.00	37.27
120	43.31	144	145	144	144.33	41.57
130	49.44	132	132	131	131.67	45.57
140	54.54	120	119	119	119.33	50.28
150	60.56	109	108	107	108.00	55.56

Z provedených 3 měření každé hodnoty průtoku byla vypočítána průměrná hodnota času a následně byla dopočítána hodnota odpovídajícího průtoku dle vzorce:

$$\text{průtok} = \frac{V}{t} \cdot 60 \text{ [ml/min]} \quad (23)$$

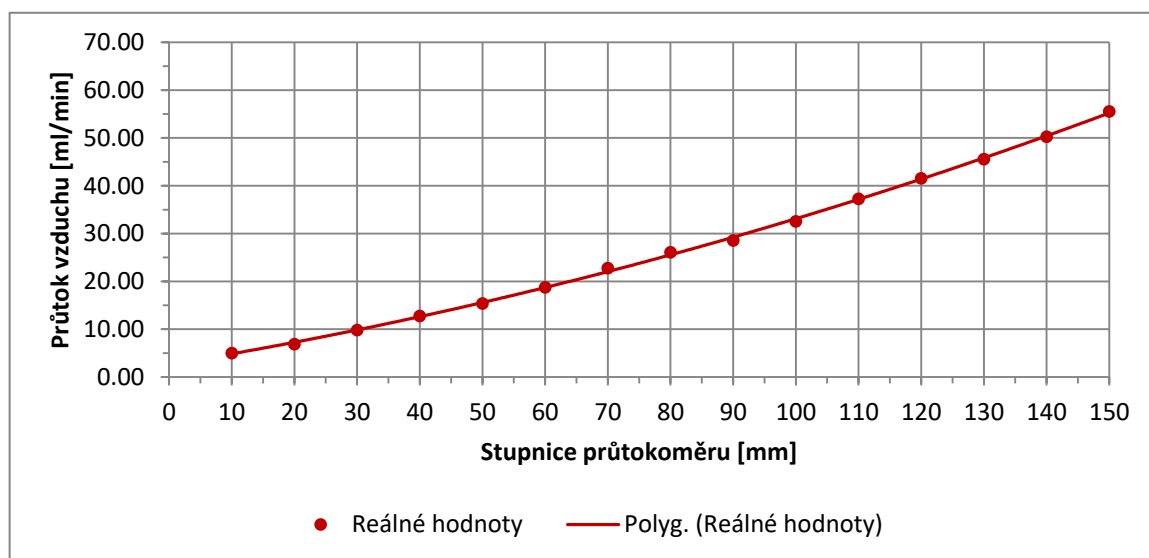
Kde: V - cejkovaný objem skleněného flowmetru (do 31 ml/min - 10 ml, nad 31 ml - 100 ml)
t ... průměr časů potřebných k vystoupení k rysce

Reálně naměřené hodnoty průtoků v závislosti na stupnici pomocí skleněného bublinového flowmetru jsou patrné z následujícího obrázku a vykazují ve srovnání s kalibračním listem jisté odchylky.



Obrázek 68: Odlišnost reálných průtoků od kalibračního listu

Naměřené hodnoty průtoků vzduchu lze proložit polynomem druhého řádu, jak lze pozorovat na následujícím obrázku.



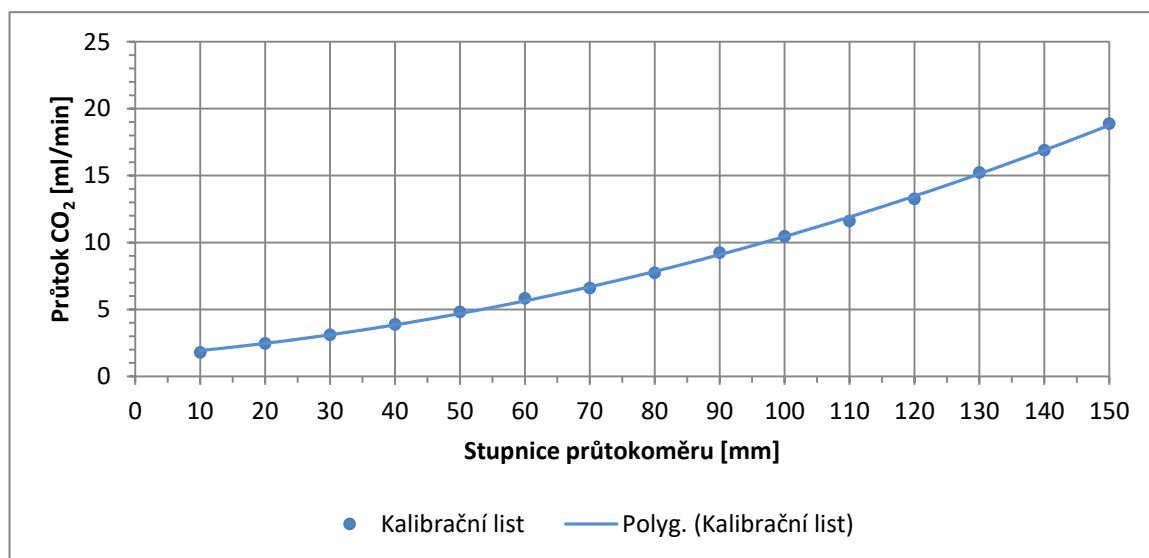
Obrázek 69: Reálně naměřené hodnoty průtoků vzduchu (stainless steel kulička)

Hodnoty jsou proloženy polynomem druhého stupně, který je dán následující rovnicí s hodnotou spolehlivosti 0,9994:

$$y = 0,0009x^2 + 0,2132x + 2,6292 \quad (24)$$

Stejným způsobem byl po výměně kuličky carboloy za kuličku glass (0,04 g), kterou je možno k průtokoměru dokoupit jako příslušenství, zkalibrován také druhý průtokoměr pro CO₂. Rozsah průtokoměru se dle kalibračního listu nyní pohybuje v rozsahu 1,80 -18,89 ml/min. Tento předpoklad byl ověřen následující kalibrací pomocí skleněného bublinového flowmeteru, jako v předchozím případě.

Kalibrační křivka výrobce pro průtokoměr se skleněnou kuličkou je znázorněn na následujícím obrázku:



Obrázek 70: Kalibrační list – CO₂ (glass kulička)

Hodnoty grafu je možné proložit následujícím polynomem druhého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9993:

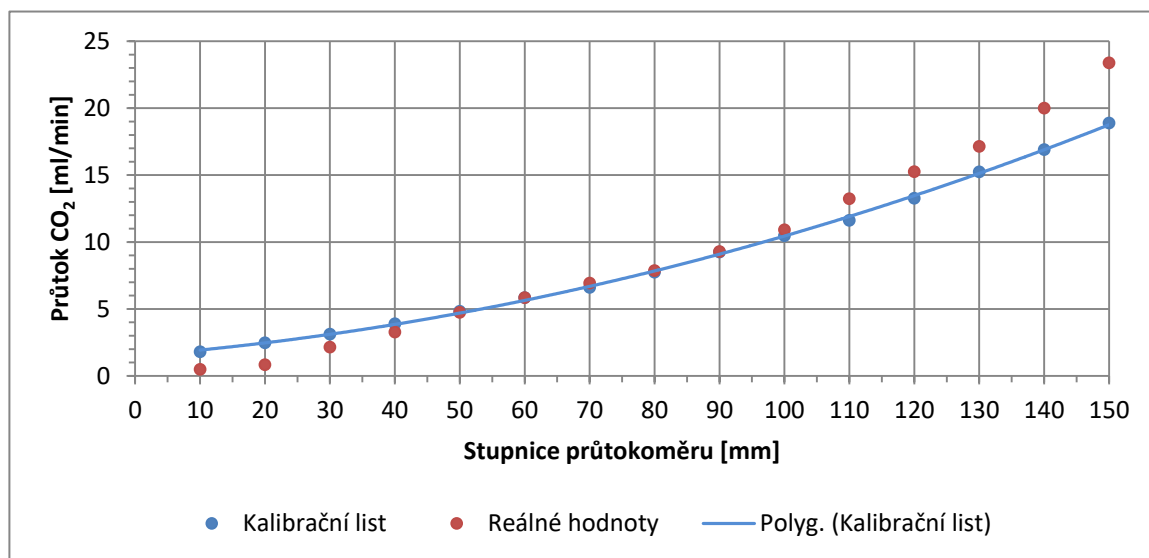
$$y = 0,0005x^2 + 0,0384x + 1,4956 \quad (25)$$

Obdobným postupem jako u předchozího průtokoměru pro vzduch byly měřeny časy pohybu mýdlové bubliny (do průtoku 6 ml/min byly měřeny na cejkovaném úseku 1 ml, vyšší průtoky na úseku odpovídajícím objemu 10 ml). Naměřené hodnoty časů a z nich vypočtené hodnoty průtoků CO_2 pro jednotlivá nastavení stupnice jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 9: Změřené hodnoty průtoků CO_2 :

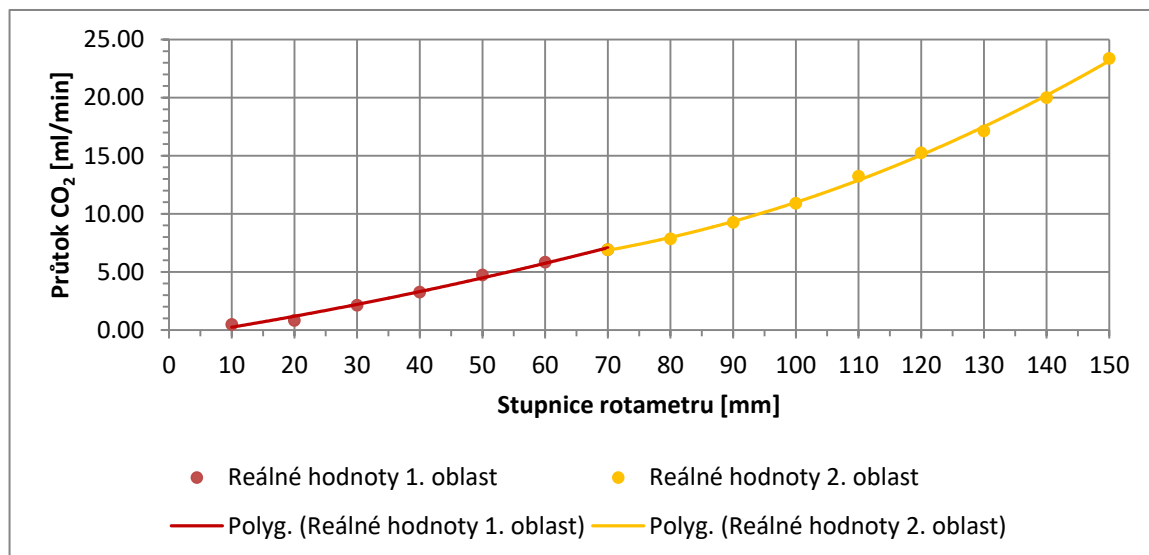
stupnice průtokoměru [mm]	kalibrační list	1. měření	2. měření	3. měření	průměrný čas	AVG průtok
	[ml/min]	čas [s]	čas [s]	čas [s]	čas [s]	[ml/min]
10	1.80	123	123	122	122.67	0.49
20	2.47	71	73	73	72.33	0.83
30	3.11	28	28	28	28.00	2.14
40	3.89	19	18	18	18.33	3.27
50	4.83	13	12	13	12.67	4.74
60	5.84	102	103	103	102.67	5.84
70	6.61	86	87	87	86.67	6.92
80	7.74	76	77	76	76.33	7.86
90	9.25	65	65	64	64.67	9.28
100	10.47	55	55	55	55.00	10.91
110	11.61	46	45	45	45.33	13.24
120	13.27	40	39	39	39.33	15.25
130	15.24	35	35	35	35.00	17.14
140	16.90	30	30	30	30.00	20.00
150	18.89	26	26	25	25.67	23.38

Reálně naměřené hodnoty průtoků jsou patrné z následujícího obrázku a opět vykazují ve srovnání s křivkou kalibračního listu jisté odchylky, jak je možno vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 71: Odlišnost reálných průtoků od kalibračního listu

Bodová data reálně změřených hodnot průtoků CO_2 není možné proložit jedinou křivkou. Data je ale možno rozdělit do dvou oblastí, ve kterých je možné proložit hodnoty polynomem druhého stupně s dobrou hodnotou spolehlivosti. Proložení hodnot křivkou pro obě oblasti je možno vidět na následujícím obrázku:



Obrázek 72: Reálné hodnoty průtoků CO_2 proložené polynomickými křivkami

První oblast naměřených hodnot průtoků se pohybuje do 7 ml/min (na stupnici průtokoměru v rozsahu 10 – 70 mm) a je proložena polynomem druhého stupně s následující rovnicí a hodnotou spolehlivosti 0,9921:

$$y = 0,0004x^2 + 0,0823x - 0,6223 \quad (26)$$

Druhá oblast naměřených hodnot průtoků vyšších než 7 ml/min se pohybuje na stupnici průtokoměru v rozsahu 70 – 150 mm a je proložena polynomem druhého stupně s následující rovnicí a hodnotou spolehlivosti 0,9985:

$$y = 0,0013x^2 - 0,088x + 6,5179 \quad (27)$$

Z výše uvedených reálných kalibračních křivek je zřejmé, že parametry obou průtokoměrů jsou po výměně kuliček pro navrhovaný celkový průtok směsi plynu 50 ml/min s obsahem CO₂ 5 – 9 obj. procent vyhovující a nyní je možné dostatečně citlivě regulovat průtoky CO₂ i v menších oblastech průtoků, což s původním nastavením průtokoměru nebylo možné.

Nastavení hodnot průtoku pro vzduch i oxid uhličitý pro jednotlivé objemové podíly CO₂ je možné vidět v následující tabulce. Jak bylo zmíněno dříve, zajímavá oblast objemových zlomků CO₂ se pohybuje v rozmezí 5 – 9 obj. %.

Tabulka 10: Koncentrace plynů ve směsi pro celkový průtok 50 ml s odpovídající hodnotou na stupnici rotametry

CO ₂			Vzduch		
objem [%]	průtok [ml/min]	hodnota na stupnici [mm]	objem [%]	průtok [ml/min]	hodnota na stupnici [mm]
0	0,00	0,00	100	50,00	139,75
1	0,50	12,84	99	49,50	138,67
2	1,00	18,12	98	49,00	137,59
3	1,50	23,18	97	48,50	136,50
4	2,00	28,04	96	48,00	135,41
5	2,50	32,73	95	47,50	134,41
6	3,00	37,26	94	47,00	133,21
7	3,50	41,66	93	46,50	132,10
8	4,00	45,92	92	46,00	130,99
9	4,50	50,06	91	45,50	129,88
10	5,00	54,09	90	45,00	128,76
11	5,50	58,03	89	44,50	127,63
12	6,00	61,86	88	44,00	126,50
13	6,50	65,62	87	43,50	125,36
14	7,00	72,79	86	43,00	124,22
15	7,50	77,45	85	42,50	123,07

V tabulce je možno vidět vypočtené jednotlivé objemové průtoky pro oba plyny směsi včetně hodnot stupnice průtokoměrů. Vzhledem ke konstrukci stupnice není možné nastavit průtok s větší

přesností, než odpovídá 1 dílku na 150 dílkové stupnici. Z tohoto důvodu byla provedena korekce zaokrouhlením na celé dílky stupnice, pro které byly z kalibračních rovnic přepočítány hodnoty skutečného průtoku jednotlivých plynů. Korigované hodnoty průtoků, včetně nově vypočtených objemových zlomků CO₂, je možné vidět v následující tabulce:

Tabulka 11: Korigované hodnoty nastavení stupnice a odpovídající průtoky plynů

CO ₂			Vzduch		
reálné objemové procento CO ₂ [%]	zaokrouhlená hodnota na stupnici [mm]	zaokrouhlený průtok [ml/min]	reálné objemové procento vzduchu [%]	zaokrouhlená hodnota na stupnici [mm]	zaokrouhlený průtok [ml/min]
0,00	0,00	0,00	100	140,00	50,28
1,03	13,00	0,52	98,97	139,00	49,65
1,97	18,00	0,99	98,03	138,00	49,19
2,95	23,00	1,48	97,05	137,00	48,73
4,01	28,00	2,00	95,99	135,00	47,81
5,07	33,00	2,53	94,93	134,00	47,36
5,96	37,00	2,97	94,04	133,00	46,90
7,08	42,00	3,54	92,92	132,00	46,45
8,02	46,00	4,01	91,98	131,00	46,00
8,98	50,00	4,49	91,02	130,00	45,56
9,96	54,00	4,99	90,04	129,00	45,11
10,96	58,00	5,50	89,04	128,00	44,66
11,98	62,00	6,02	88,02	127,00	44,22
12,90	65,00	6,42	87,10	125,00	43,34
14,06	73,00	7,02	85,94	124,00	42,90
14,92	77,00	7,45	85,08	123,00	42,47

Pro ověření funkčnosti soustavy míchání plynů bylo provedeno měření celkového průtoku pro body uvedené v předchozí tabulce. Objemy reálně změřené bublinovým flowmetrem jsou uvedeny v následující tabulce. Stanovení celkového reálného objemového průtoku bylo prováděno měřením času na cejchovaném objemu 100 ml. Objemový průtok se vypočítal opět dle rovnice (23).

Tabulka 12: Stanovení celkového reálného průtoku směsi plynu

nastavovaná hodnota na stupnici CO ₂ [mm]	nastavovaná hodnota na stupnici vzduch [mm]	čas 1 [s]	čas 2 [s]	čas 3 [s]	AVG čas [s]	skutečný průtok [ml/min]
0.00	140.00	120	119	199	119.33	50.28
13.00	139.00	121	120	120	120.33	49.86
18.00	138.00	121	120	121	120.67	49.72
23.00	137.00	120	120	119	119.67	50.14
28.00	135.00	121	122	122	121.67	49.32
33.00	134.00	121	121	121	121.00	49.59
37.00	133.00	120	121	120	120.33	49.86
42.00	132.00	120	121	120	120.33	49.86
46.00	131.00	121	120	122	121.00	49.59
50.00	130.00	123	121	120	121.33	49.45
54.00	129.00	120	120	120	120.00	50.00
58.00	128.00	121	120	120	120.33	49.86
62.00	127.00	119	120	120	119.67	50.14
65.00	125.00	122	122	123	122.33	49.05
73.00	124.00	122	122	123	122.33	49.05
77.00	123.00	123	123	122	122.67	48.91

Z hodnot v tabulce je patrné, že hodnota skutečného celkového průtoku se pohybuje okolo 50 ml/min. Porovnání předpokládaných a skutečně změřených hodnot celkového průtoku je uvedeno v následující tabulce.

Tabulka 13: Porovnání předpokládaných a skutečně změřených hodnot celkového průtoku pro jednotlivá nastavení objemových zlomků plynů

nastavovaná hodnota na stupnici CO ₂ [mm]	nastavovaná hodnota na stupnici vzduch [mm]	celkový průtok vypočtený [ml/min]	skutečný průtok [ml/min]	delta [ml/min]	rozdíl průtoků [%]
0.00	140.00	50.28	50.28	0	0
13.00	139.00	50.17	49.86	0.31	0.61
18.00	138.00	50.18	49.72	0.46	0.91
23.00	137.00	50.21	50.14	0.07	0.14
28.00	135.00	49.81	49.32	0.49	0.99
33.00	134.00	49.89	49.59	0.30	0.60
37.00	133.00	49.88	49.86	0.01	0.03
42.00	132.00	49.99	49.86	0.13	0.26
46.00	131.00	50.01	49.59	0.43	0.85
50.00	130.00	50.05	49.45	0.60	1.19
54.00	129.00	50.10	50.00	0.10	0.19
58.00	128.00	50.16	49.86	0.30	0.60
62.00	127.00	50.24	50.14	0.10	0.20
65.00	125.00	49.76	49.05	0.71	1.43
73.00	124.00	49.93	49.05	0.88	1.76
77.00	123.00	49.92	48.91	1.01	2.01

Z výše uvedené tabulky je možno vidět, že rozdíl mezi předpokládaným objemem a objemem reálně změřeným je pro nízké podíly CO₂ do 1 % a pro vyšší průtoky maximálně 2 %. Zde je potřeba poznamenat, že oblast většího rozdílu předpokládaného a reálního průtoku je již mimo zájmovou oblast objemového zlomku CO₂.

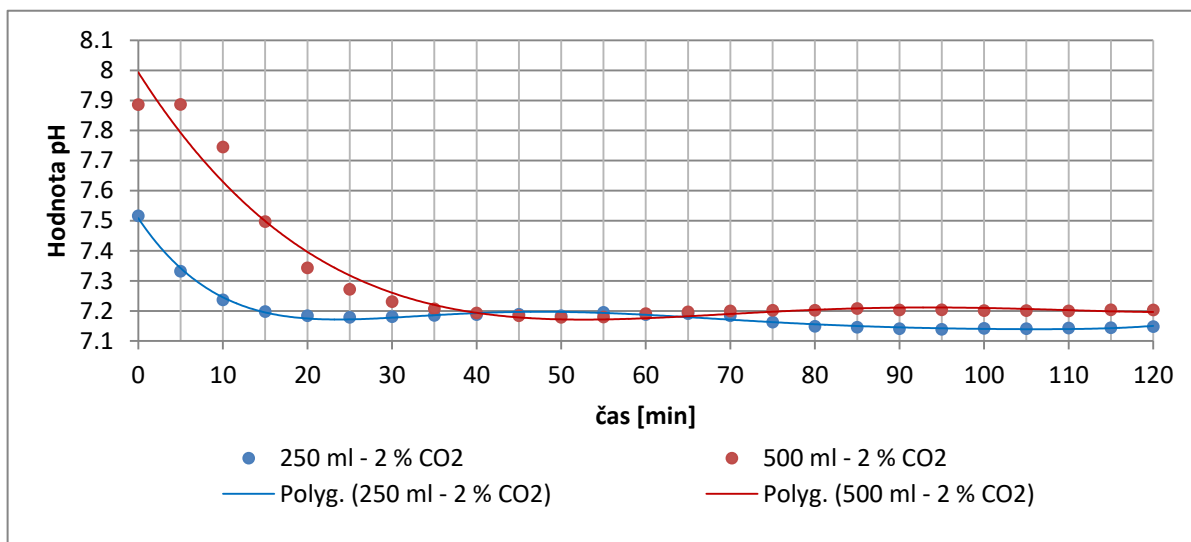
Kalibrace průtokoměrů byla poslední krokem k zahájení samotného měření na modelovém systému. Díky ní je možno míchat směs plynu v zájmové oblasti s přesností na 1 % a dosáhnout tak přesného nastavení parciálního tlaku pCO₂ v modelu.

4.2.6.5 Ustavování chemické rovnováhy

V modelovém systému kompartment syndromu dochází k postupnému nasycení roztoku elektrolytu směsí plynu o daném parciálním tlaku pCO₂. Čím je tento tlak vyšší (vyšší zastoupení acidického CO₂ ve směsi), tím více klesá hodnota pH v elektrolytu. Při navolení konstantního parciálního tlaku, tedy konstantních tomu odpovídajících objemových průtoků vzduchu a CO₂, dochází k postupnému ustavování chemické rovnováhy uvnitř elektrolytu. To znamená, že aby bylo možné odečíst hodnotu pH, která bude vynesena do výsledného grafu, je třeba vyčkat určitou dobu. Tato doba byla experimentálně určena proměřením křivek ustavování chemické rovnováhy pro tři hodnoty objemových průtoků CO₂ ve směsi plynu. V případě, že by byla změřená hodnota pH odečtena dříve, došlo by k výraznému zkreslení výsledků a naměřená závislost změny pH na parciálním tlaku pCO₂ by nebyla odpovídající. Dalším zkoumaným parametrem souvisejícím

s ustavováním rovnováhy pH byl objem elektrolytu uvnitř baňky. Konkrétně byla pozorována rychlost ustavování pro 250 a 500 ml elektrolytu.

Kinetika ustavování pH v elektrolytu pro 2% objemový průtok CO_2 ve směsi plynu je zobrazena na následujícím obrázku.



Obrázek 73: Ustavení rovnováhy pH v objemu 250 ml a 500 ml pro obj. průtok CO_2 2 %

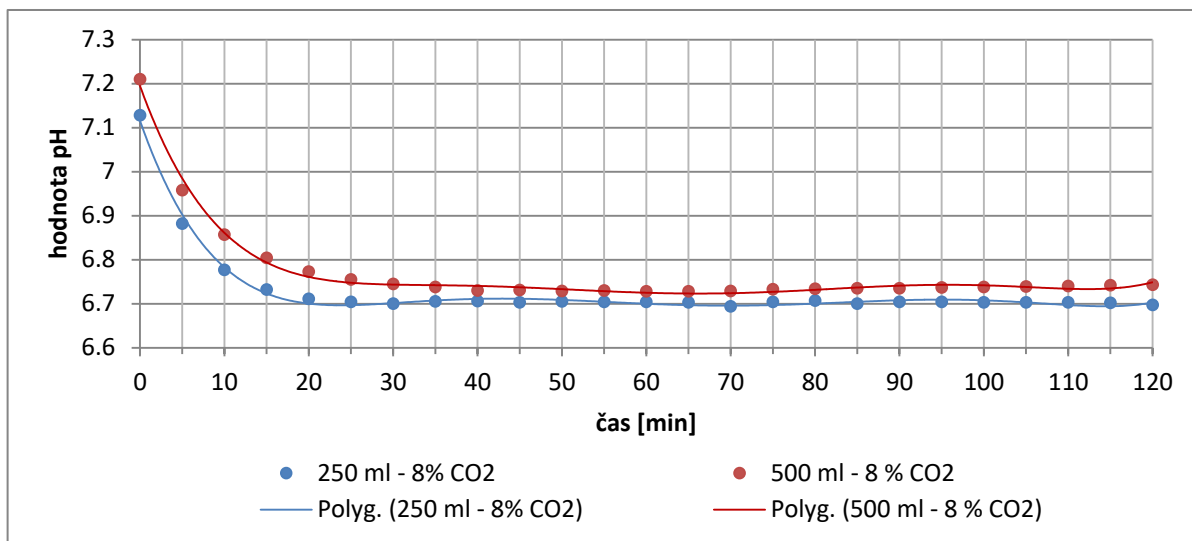
Naměřené hodnoty pH pro objem elektrolytu 500 ml byly proloženy polynomem čtvrtého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9637, kterému odpovídá následující rovnice:

$$y = 2 \cdot 10^{-8}x^4 - 7 \cdot 10^{-6}x^3 + 0,0008 \cdot x^2 - 0,0441 \cdot x + 7,9933 \quad (28)$$

Hodnoty pH pro objem elektrolytu 250 ml byly proloženy polynomem šestého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9929. Tomuto proložení odpovídá následující rovnice:

$$y = 5 \cdot 10^{-12}x^6 - 2 \cdot 10^{-9}x^5 + 5 \cdot 10^{-7}x^4 - 4 \cdot 10^{-5}x^3 + 0,0019x^2 - 0,0418x + 7,5083 \quad (29)$$

Kinetika ustavování pH v elektrolytu pro 8% objemový průtok CO₂ ve směsi plynu je zobrazena na následujícím obrázku:



Obrázek 74: Ustavení rovnováhy pH v objemu 250 ml a 500 ml pro obj. průtok CO₂ 8 %

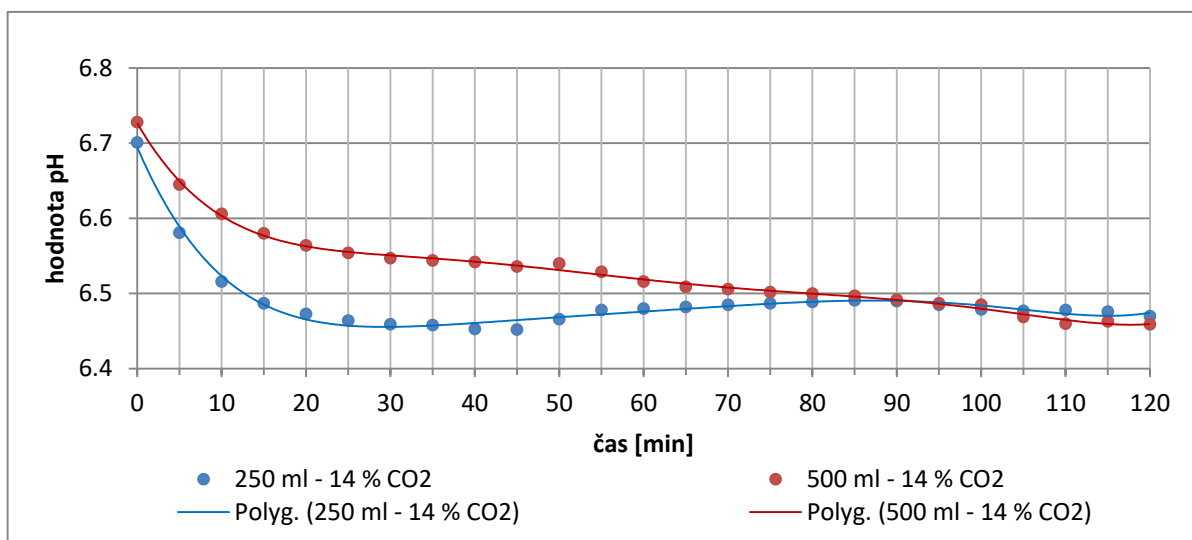
Změřené hodnoty pH pro objem elektrolytu 500 ml byly proloženy polynomem šestého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9932, kterému odpovídá následující rovnice:

$$y = 1 \cdot 10^{-11}x^6 - 5 \cdot 10^{-9}x^5 + 7 \cdot 10^{-7}x^4 - 6 \cdot 10^{-5}x^3 + 0,0025x^2 - 0,053x + 7,1952 \quad (30)$$

Hodnoty pH pro objem elektrolytu 250 ml byly proloženy polynomem šestého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9933. Tomuto proložení odpovídá následující rovnice:

$$y = 1 \cdot 10^{-11}x^6 - 5 \cdot 10^{-9}x^5 + 8 \cdot 10^{-7}x^4 - 6 \cdot 10^{-5}x^3 + 0,0027x^2 - 0,0546x + 7,116 \quad (31)$$

Kinetika ustavování pH v elektrolytu pro 14% objemový průtok CO₂ ve směsi plynu je zobrazena na následujícím obrázku:



Obrázek 75: Ustavení rovnováhy pH v objemu 250 ml a 500 ml pro obj. průtok CO₂ 14 %

Změřené hodnoty pH pro objem elektrolytu 500 ml byly proloženy polynomem šestého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,997, kterému odpovídá následující rovnice:

$$y = 4 \cdot 10^{-12}x^6 - 2 \cdot 10^{-9}x^5 + 3 \cdot 10^{-7}x^4 - 2 \cdot 10^{-5}x^3 + 0,0009x^2 - 0,0194x + 6,7268 \quad (32)$$

Hodnoty pH pro objem elektrolytu 250 ml byly proloženy polynomem šestého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9891. Tomuto proložení odpovídá následující rovnice:

$$y = 4 \cdot 10^{-12}x^6 - 2 \cdot 10^{-9}x^5 + 3 \cdot 10^{-7}x^4 - 2 \cdot 10^{-5}x^3 + 0,0011x^2 - 0,0262x + 6,6948 \quad (33)$$

Z uvedených grafů je patrné, že baňka o objemu elektrolytu 250 ml vykazuje lepší průběh křivky ustavování hodnot pH při všech použitých koncentracích CO₂ ve směsi plynu. Z tohoto důvodu bylo výhodné následující měření závislosti pH na parciálním tlaku pCO₂ provést v menším objemu elektrolytu. Proměřené křivky ustavování chemické rovnováhy určují celkovou dobu měření pro jednu hodnotu parciálního tlaku. Tato doba byla zvolena na 115 minut. Po získání dat během této doby bude z posledních 100 hodnot vypočtena průměrná hodnota pH (v této době již došlo k ustálení hodnoty pH). Pro tento rozsah hodnot budou vypočteny směrodatné odchylky, které poukazují na konstantnost odečítaných hodnot.

4.2.7 Experimentální procedura

Poznatky získané předběžnými měřeními, které jsou popsány v předchozích kapitolách, je možno shrnout do následující experimentální procedury:

- Baňka o objemu 250 ml nebo 500 ml – výběr vhodného objemu baňky na základě výsledků ustavování rovnováhy pH
- Ohřev elektrolytu bez míchání plynem po dobu 60 minut při nastavení regulátoru lázně na 38,2 °C
- Probublávání elektrolytu po dobu 15 minut pro dosažení konstantní teploty celého objemu elektrolytu
- V případě použití baňky o objemu 250 ml lze urychlit proces vyhřívání a již po dosažení teploty 36,2 °C (cca 30 minut) začít baňku probublávat a v důsledku nuceného míchání směsi plynu dojde k ustavení na požadované teplotě 37 °C po asi 3 minutách
- Celkový průtok plynu je udržován na hodnotě 50 ml/min, pro který je vypočten procentuální podíl objemových průtoků jednotlivých plynů
- Nastavení hodnot průtoků CO₂ a vzduchu dle požadovaného objemového složení (zlomku)
- Po každé změně objemového složení směsi plynů je třeba zahájit online sběr dat závislosti pH na čase – odběr hodnot po 10 s po dobu 115 minut
- Získání ustálené hodnoty pH jako aritmetický průměr 100 posledních hodnot 115 minutového měření – z těchto hodnot určení směrodatné odchylky

Pro správnou realizaci měření a získání kvalitních výsledků je nutno dodržet výše bodově shrnutou experimentální proceduru.

5 Výsledky a diskuze

V modelové simulaci kompartment syndromu byly proměřeny závislosti pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ ve dvou roztocích elektrolytu. Pro měření změn pH v elektrolytu byla nejdříve použita skleněná pH elektroda a následně byla stejná závislost proměřena pomocí ISFET senzoru. Výsledky obou těchto měření byly následně porovnány a výsledkem je zjištění, zda bylo dosaženo stejných závislostí pH na $p\text{CO}_2$, které by prokázaly možnost využití ISFET senzorů jako neinvazivního senzoru pro diagnostiku kompartment syndromu. Skleněná elektroda je primárně určena pro měření pH v roztocích a je nutné ji skladovat ve 3 mol roztoku KCl, jinak dochází k degradaci intoselektivní membrány a k jejímu znehodnocení. Kvůli svým geometrickým vlastnostem ji nelze využít pro měření na povrchu lidské kůže. Naopak ISFET senzory nevyžadují pro své skladování žádný roztok a jejich životnost je oproti skleněným elektrodám mnohem delší. Jejich provedení a technické parametry umožňují aplikaci na kůži pacientů a případné měření změn pH v důsledku difundace CO_2 přes kůži z končetiny postižené kompartment syndromem, na jehož základě je možné stanovit parciální tlak $p\text{CO}_2$ uvnitř tkáně.

Volba dvou elektrolytů vychází z literární rešerše s cílem ověřit jejich citlivost pH na změně parciálního tlaku $p\text{CO}_2$. Byla snaha ověřit, zda modifikované složení elektrolytu nezajistí vyšší strmost sledovaného trendu závislosti pH na $p\text{CO}_2$, tj. větší změnu pH na jednotku parciálního tlaku CO_2 měřené v mmHg. Při dosažení vyšší strmosti křivky v zájmové oblasti, která se pohybuje od 40 mmHg do 70 mmHg (zájmová oblast vychází z provedené studie na makacích medvědech, u kterých byl simulován kompartment syndrom zaškrcením dolní končetiny) u modifikovaného elektrolytu by bylo možné tento elektrolyt využít k výrobě intoselektivní vrstvy nového velmi citlivého senzoru pro neinvazivní diagnostiku kompartment syndromu s lepšími vlastnostmi než dosud komerčně dostupné senzory (ISFET).

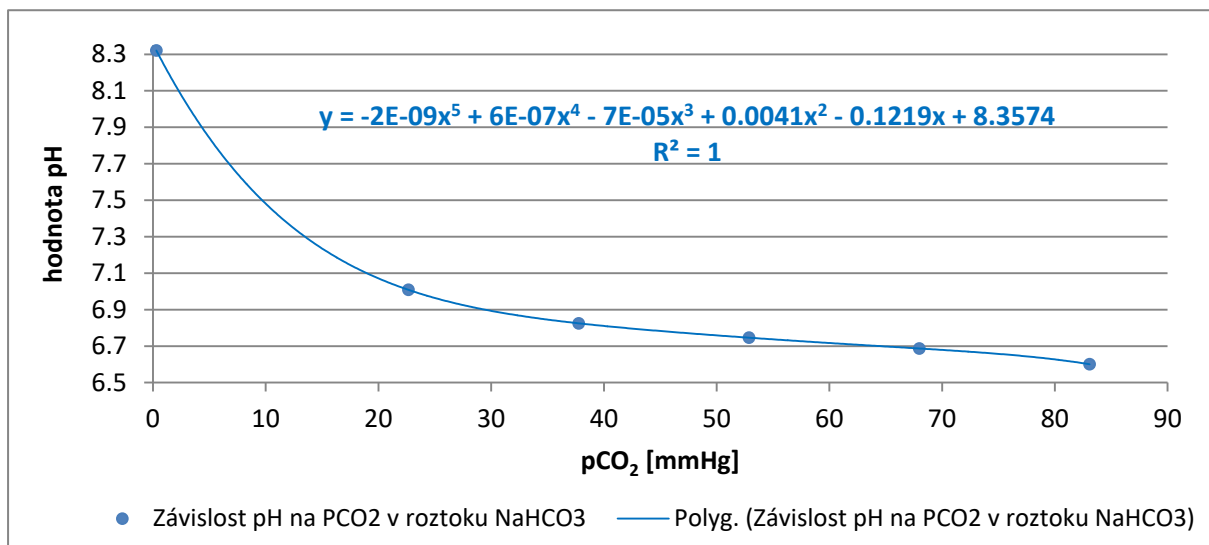
Vzhledem k časové náročnosti experimentu a postupnému zahušťování elektrolytu uvnitř baňky nebylo možné uskutečnit měření celé křivky v jednom dni. Každá hodnota pH pro definované zastoupení CO_2 ve směsi plynu pro tomu odpovídající hodnotu parciálního tlaku byla odečítána po ustálení hodnoty pH elektrolytu 115 minut. Tato doba byla experimentálně stanovena a blíže popsána v kapitole 4.2.6.5.

Pro porovnání křivek závislosti pH na $p\text{CO}_2$ byl použit následující měřicí postup:

1. Proměření oblasti 0 – 14 % CO_2 ve směsi plynu ve 2 měřících kampaních (dnech)
 - a. První měřicí série hodnoty 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 a 13 % CO_2 ve směsi plynu
 - b. Druhý měřicí série hodnoty 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 a 14 % CO_2 ve směsi plynu
2. Pro přesné porovnání strmosti trendů v zájmové oblasti byly v rámci jedné měřicí kampaně změřeny hodnoty závislosti pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ skleněnou elektrodou, pro 5 – 10% zastoupení CO_2 ve směsi plynu. Tomuto objemovému procentu ve směsi odpovídá rozmezí parciálního tlaku 38 – 76 mmHg.

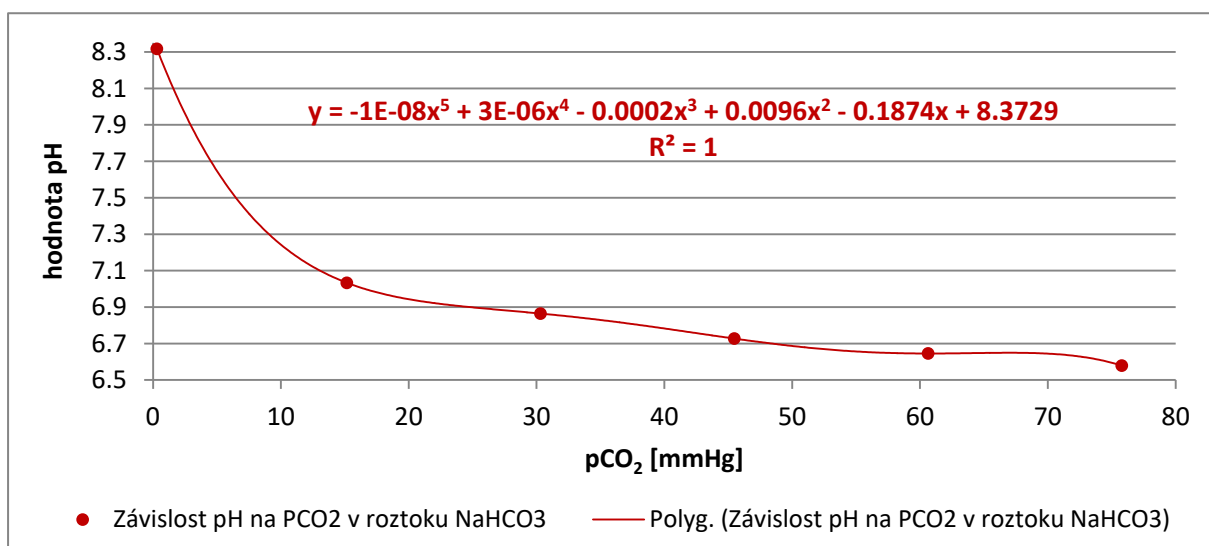
Měření závislosti pH na změně $p\text{CO}_2$ pomocí skleněné pH elektrody

Změřená závislost pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ měřena skleněnou elektrodou v první kampani v roztoku elektrolytu NaHCO_3 s proložením bodů polynomem pátého stupně a uvedením hodnoty spolehlivosti je uvedena na následujícím obrázku.



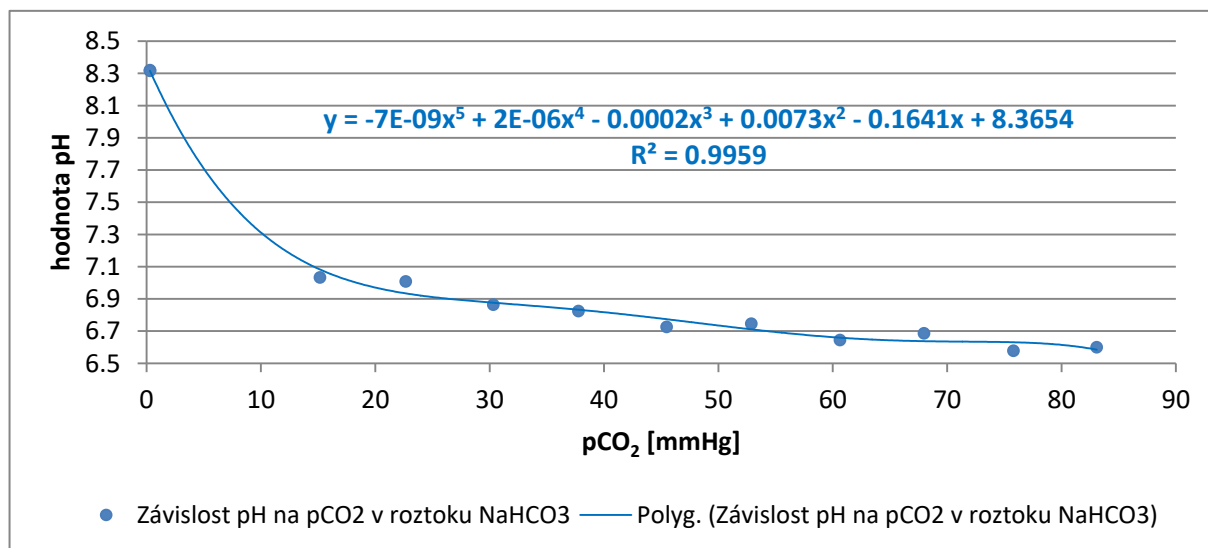
Obrázek 76: Závislost změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v elektrolytu NaHCO_3 - 1. kampaň, měřeno skleněnou elektrodou

Vzhledem k časové náročnosti měření byly ve druhé měřící sérii změřeny zbývající hodnoty křivky. Tyto body jsou proloženy polynomem pátého stupně s hodnotou spolehlivosti 1. Tuto závislost je možné vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 77: Závislost změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v elektrolytu NaHCO_3 - 2. kampaň, měřeno skleněnou elektrodou

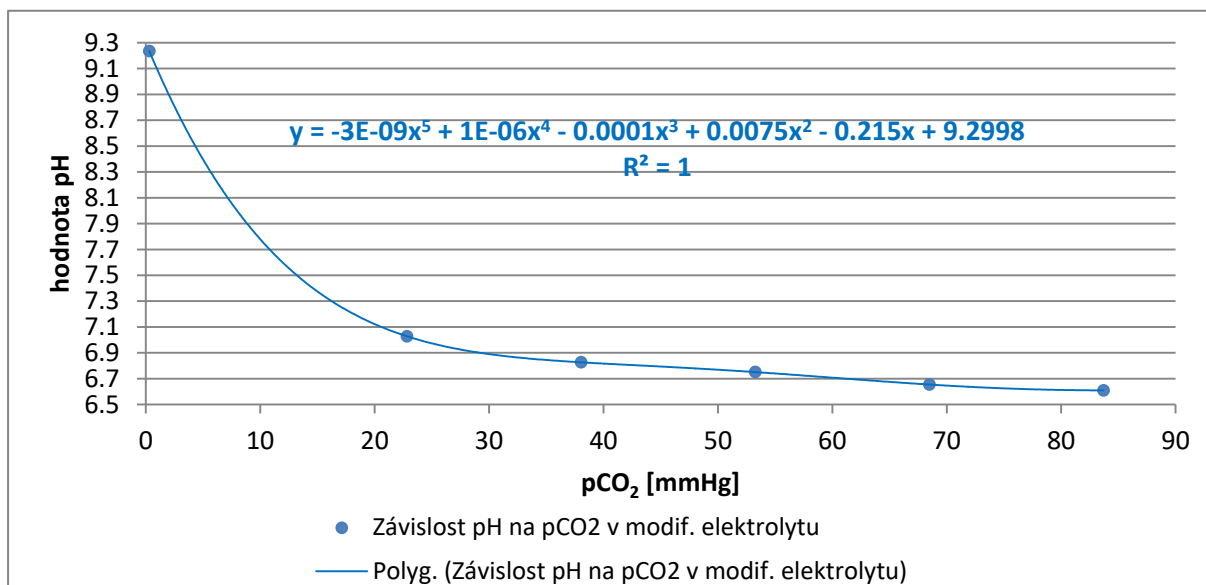
Ze změřených hodnot pH v obou částech kampaně pomocí skleněné elektrody byla sestrojena výsledná křivka závislosti pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ pro roztok elektrolytu NaHCO_3 , která je uvedena na následujícím obrázku.



Obrázek 78: Průběh závislosti změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v elektrolytu NaHCO_3

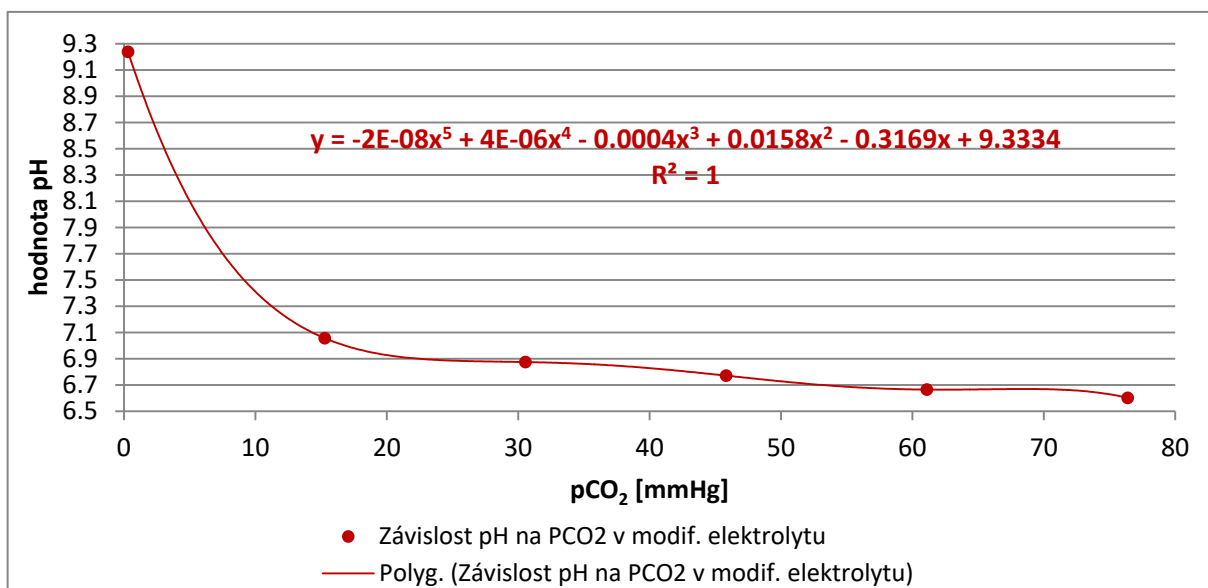
Naměřené body jsou proloženy polynomm pátého stupně, jehož rovnice je uvedena v grafu s hodnotou spolehlivosti 0,9959.

Stejným způsobem byla proměřena křivka závislosti pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v modifikovaném roztoku elektrolytu, u něhož byla předpokládána vyšší strmost křivky v zájmové oblasti parciálních tlaků. Proměřenou závislost změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ měřenou v první kampani s uvedením rovnice polynomu pátého stupně, kterým jsou naměřené body proloženy s hodnotou spolehlivosti 1, lze vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 79: Závislost změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v modif. elektrolytu - 1. kampaň, měřeno skleněnou elektrodou

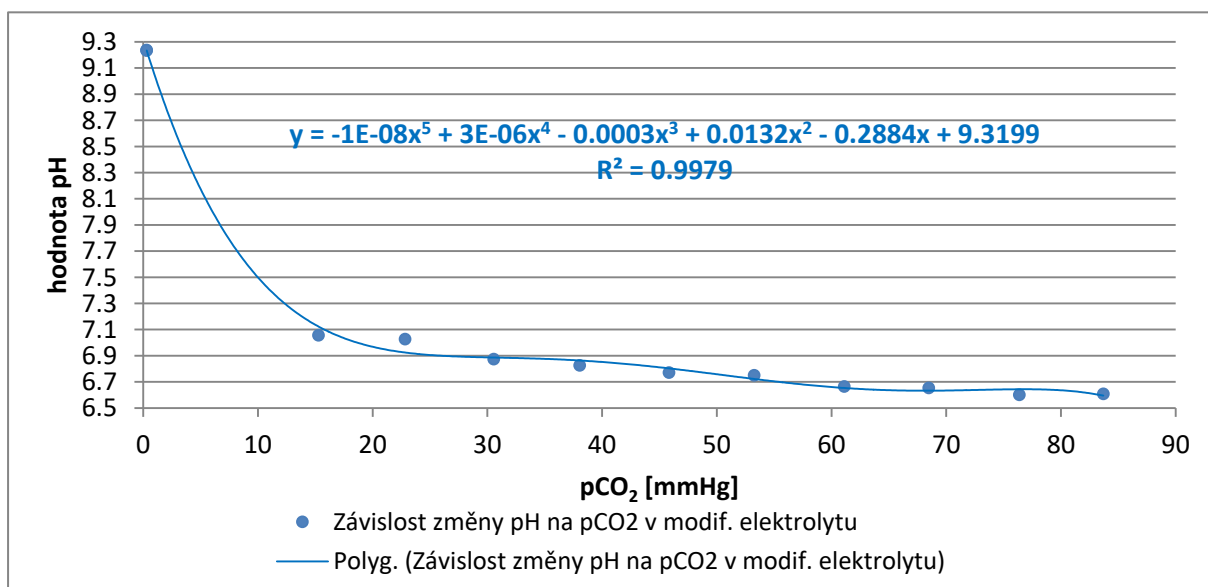
Zbývající body sledované závislosti byly změřeny ve druhé části kampaně a jsou uvedeny na následujícím obrázku.



Obrázek 80: Závislost změny pH na parciálním tlaku pCO₂ v modif. elektrolytu - 2. kampaň, měřeno skleněnou elektrodou

Jednotlivé naměřené body jsou proloženy polynomem pátého stupně, jehož rovnice je uvedena na obrázku výše s hodnotou spolehlivosti 1.

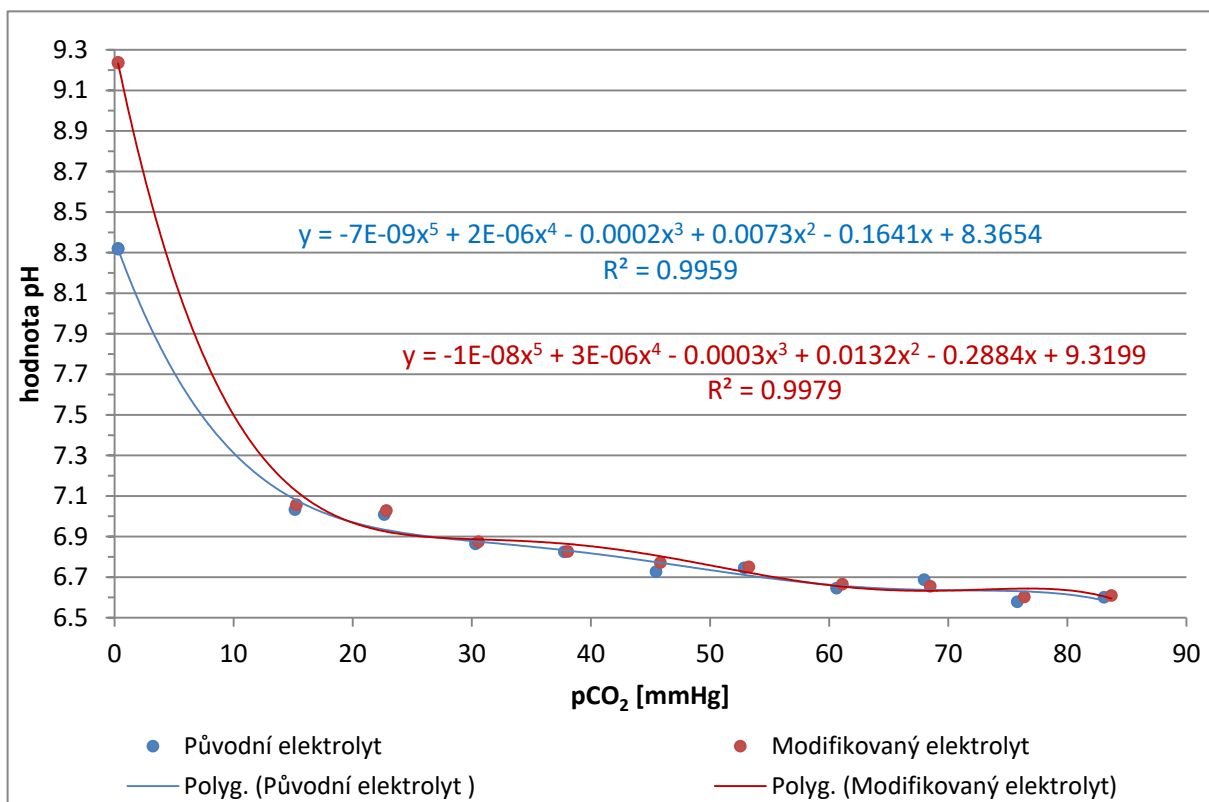
Z proměřených křivek závislostí pH na pCO₂ byl sestaven graf celkové křivky závislosti pH na pCO₂ pro modifikované složení elektrolytu. Tento graf je uveden na následujícím obrázku.



Obrázek 81: Průběh závislosti změny pH na parciálním tlaku pCO₂ v modifikovaném elektrolytu

Body naměřené křivky jsou proloženy polynomem pátého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9979.

Následně byly celkové křivky závislosti pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ mezi sebou porovnány, aby bylo možné posoudit, zda modifikovaný roztok vykazuje lepší průběh (větší strmost křivky) v zájmové oblasti parciálních tlaků v rozsahu 40 – 70 mmHg. Sledované závislosti obou elektrolytů s uvedením rovnic polynomů, kterými jsou proloženy naměřené body s hodnotami spolehlivosti, jsou uvedeny na následujícím obrázku.



Obrázek 82: Porovnání závislosti změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ ve dvou ověřovaných elektrolytech

Z grafu výše je patrné, že sledované závislosti se liší zejména počáteční hodnotou pH. Při proměření jednotlivých bodů je zřejmé, že obě závislosti vykazují téměř shodný průběh. Nebylo tedy potvrzeno, že by modifikované složení elektrolytu v uvedeném experimentálním modelu změnilo strmost křivky v zájmové oblasti. Přidané množství uhličitánu sodného v modifikovaném roztoku reaguje s oxidem uhličitým, který je vháněn do elektrolytu ve směsi plynu. Při této reakci se uhličitán sodný přeměňuje na hydrogenuhličitán sodný. Tento chemický proces lze vyjádřit následující chemickou rovnicí:



Vzhledem k tomu, že dochází ke zmíněné přeměně uhličitánu sodného na hydrogenuhličitán sodný, mění se složení roztoku elektrolytu na čistý roztok hydrogenuhličitánu sodného, tedy na první základní roztok s jeho shodnou koncentrací, ve kterém byla měřena sledovaná závislost na počátku. Tento proces vysvětluje obdobný průběh závislosti pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v obou roztocích elektrolytu.

Naměřené hodnoty pH v závislosti na změnách parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ jsou přehledně shrnuty pro oba roztoky elektrolytu v následující tabulce s uvedením směrodatných odchylek ustálených hodnot. Z těchto dat byly vykresleny grafy závislostí uvedené výše.

Tabulka 14: Změřené hodnoty pH v závislosti na hodnotě parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ v modelové simulaci CS pro dva roztoky elektrolytu – měřeno skleněnou elektrodou

Původní složení elektrolytu				
Objemové procento CO_2 [%]	Parciální tlak $p\text{CO}_2$ [mmHg]	Průměrná hodnota pH	Směrodatná odchylka	Směrodatná odchylka [%]
0,04	0,303	8,317	0,00425	0,425
2	15,159	7,033	0,00768	0,768
3	22,659	7,009	0,00750	0,750
4	30,318	6,864	0,00850	0,850
5	37,766	6,825	0,00686	0,686
6	45,476	6,727	0,00198	0,198
7	52,872	6,746	0,00462	0,462
8	60,635	6,645	0,00377	0,377
9	67,978	6,687	0,00842	0,842
10	75,794	6,579	0,00590	0,590
11	83,085	6,601	0,01944	1,944
Modifikované složení elektrolytu				
Objemové procento CO_2 [%]	Parciální tlak $p\text{CO}_2$ [mmHg]	Průměrná hodnota pH	Směrodatná odchylka	Směrodatná odchylka [%]
0.04	0,306	9,238	0,00741	0,741
2	15,277	7,057	0,00861	0,861
3	22,828	7,028	0,00566	0,566
4	30,555	6,875	0,00302	0,302
5	38,047	6,827	0,01047	1,047
6	45,832	6,771	0,01022	1,022
7	53,266	6,751	0,00659	0,659
8	61,109	6,665	0,00755	0,755
9	68,485	6,655	0,00530	0,530
10	76,386	6,602	0,00957	0,957
11	83,703	6,609	0,00805	0,805

V rámci dalších měření byla v jedné měřicí kampani proměřena závislost pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ pro zájmovou oblast, tedy pro oblast parciálních tlaků v rozmezí 40 – 70 mmHg. Toto měření bylo realizováno pro oba roztoky elektrolytu. Naměřené hodnoty pomocí skleněné elektrody lze vidět v následující tabulce. Proměřené závislosti v oblasti zájmu obou elektrolytů se s malými

odchylkami shodují s totožnou oblastí sledované závislosti v grafech uvedených na *obrázku 78 a obrázku 81*, z tohoto důvodu nebyla data vykreslena graficky.

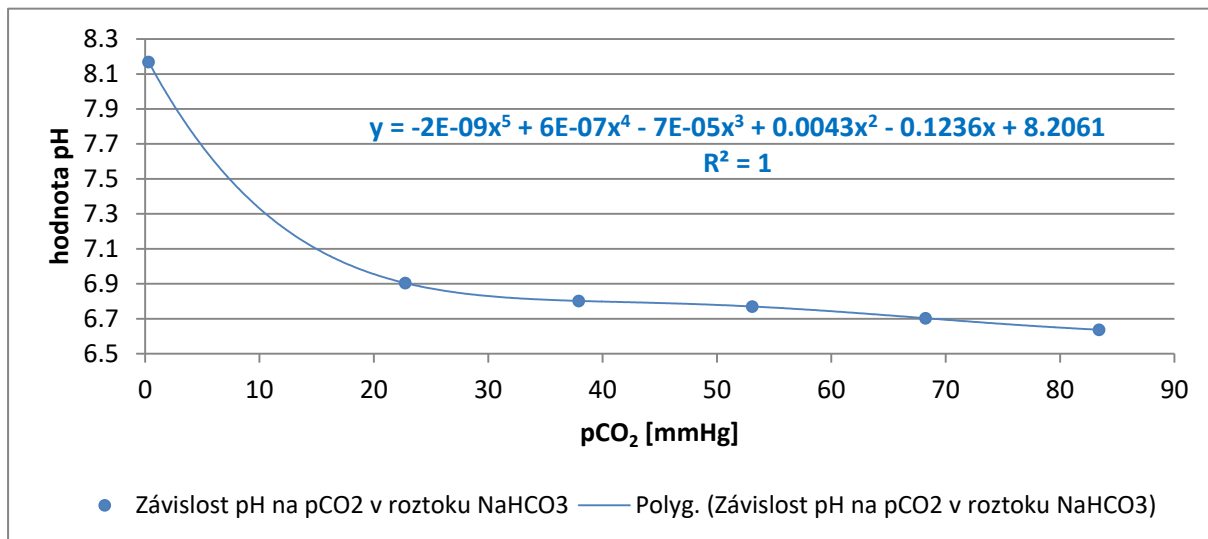
Tabulka 15: Hodnoty pH v závislosti na změně parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ v zájmových oblastech pro oba roztoky elektrolytů, měřeno skleněnou elektrodou

Původní složení elektrolytu				
Objemové procento CO_2 [%]	Parciální tlak $p\text{CO}_2$ [mmHg]	Průměrná hodnota pH	Směrodatná odchylka	Směrodatná odchylka [%]
5	38,272	6,829	0,00575	0,575
6	45,926	6,727	0,00198	0,198
7	53,581	6,684	0,00422	0,422
8	61,235	6,643	0,00419	0,419
9	68,890	6,623	0,00419	0,419
10	76,544	6,595	0,00708	0,708
Modifikované složení elektrolytu				
Objemové procento CO_2 [%]	Parciální tlak $p\text{CO}_2$ [mmHg]	Průměrná hodnota pH	Směrodatná odchylka	Směrodatná odchylka [%]
5	38,317	6,797	0,01070	1,070
6	45,980	6,786	0,00216	0,216
7	53,644	6,718	0,00440	0,440
8	61,307	6,680	0,00264	0,264
9	68,971	6,623	0,00419	0,419
10	76,634	6,595	0,00708	0,708

V dalších měřeních byla ověřována možnost použití ISFET senzorů pro neinvazivní diagnostiku kompartment syndromu. Byla provedena naprosto shodná měření jako se skleněnou elektrodou ve dvou roztocích elektrolytu, při dodržení navržené experimentální procedury.

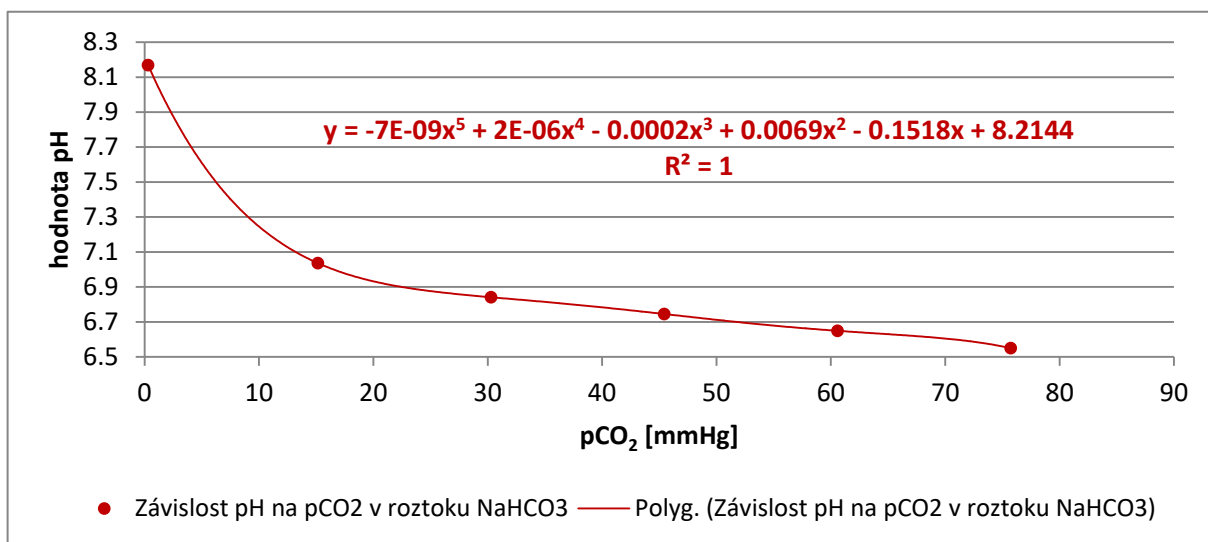
Měření závislosti pH na změně pCO₂ pomocí ISFET pH senzoru

Změřená závislost pH na parciálním tlaku pCO₂ měřena ISFET senzorem v první části měřící kampaně v roztoku elektrolytu NaHCO₃ s proložením bodů polynomem pátého stupně a uvedením hodnoty spolehlivosti je uvedena na následujícím obrázku.



Obrázek 83: Závislost změny pH na parciálním tlaku pCO₂ v elektrolytu NaHCO₃ - 1. kampaň, měřeno ISFET senzorem

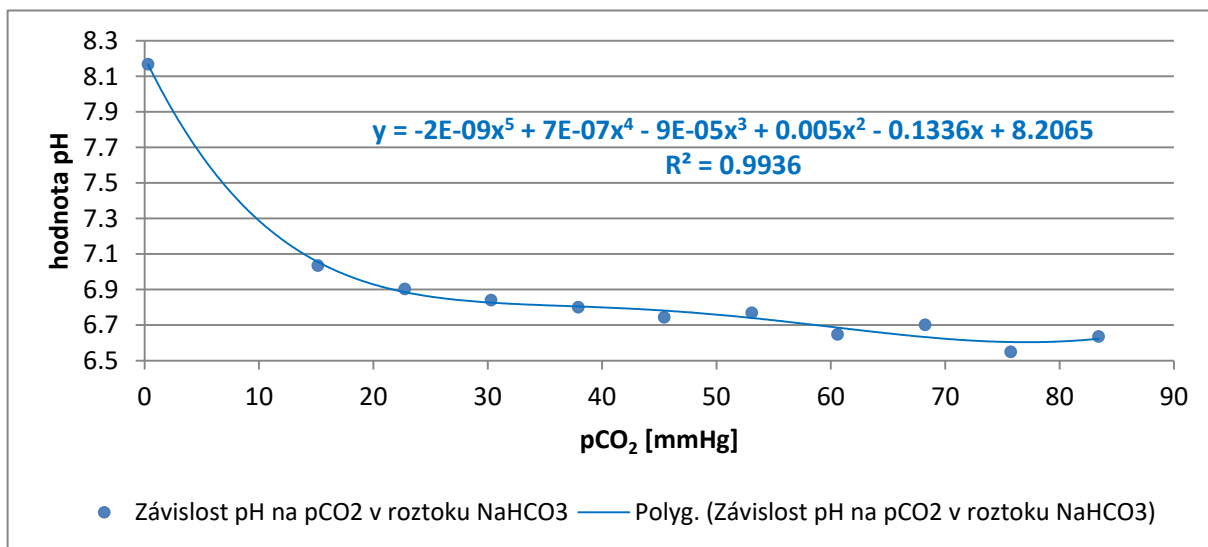
Ve druhé části měřící kampaně byly změřeny zbývající hodnoty sledované závislosti. Tyto body jsou proloženy polynomem pátého stupně s hodnotou spolehlivosti 1. Změřenou závislost je možné vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 84: Závislost změny pH na parciálním tlaku pCO₂ v elektrolytu NaHCO₃ - 2. kampaň, měřeno ISFET senzorem

Z realizovaných měření závislostí byly změřené body spojeny do jedné křivky. Tímto byla získána výsledná křivka závislosti pH na změnách pCO₂ v rozsahu 0 až 83 mmHg, pro roztok elektrolytu NaHCO₃.

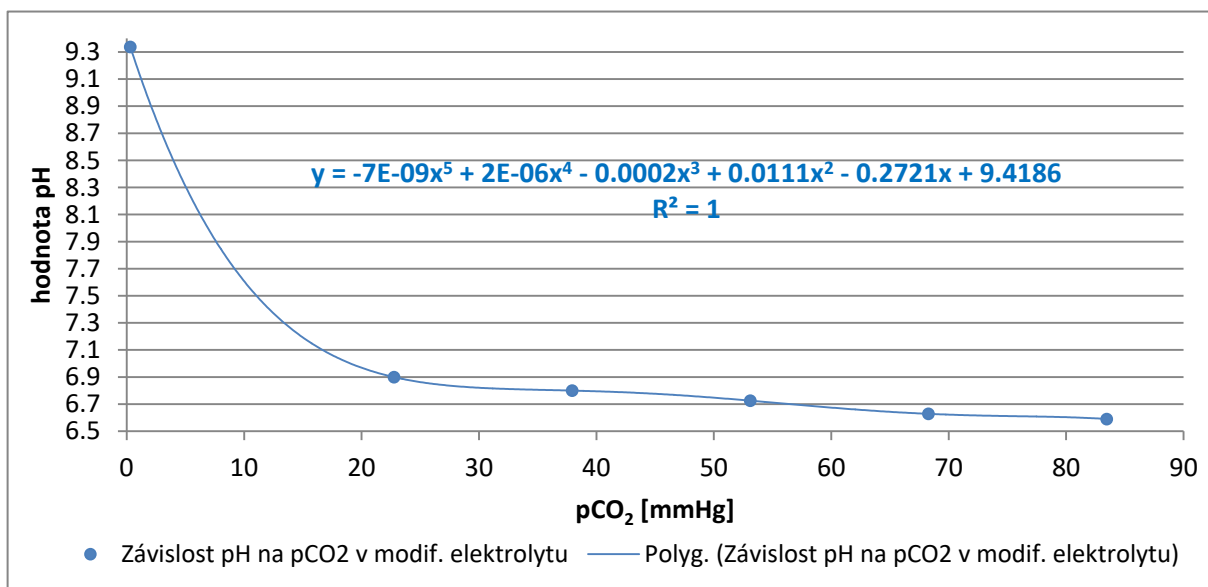
Výsledný trend závislosti je uveden včetně rovnice polynomu, kterým jsou naměřené body proloženy a hodnoty spolehlivosti na následujícím obrázku.



Obrázek 85: Průběh závislosti změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v elektrolytu NaHCO_3

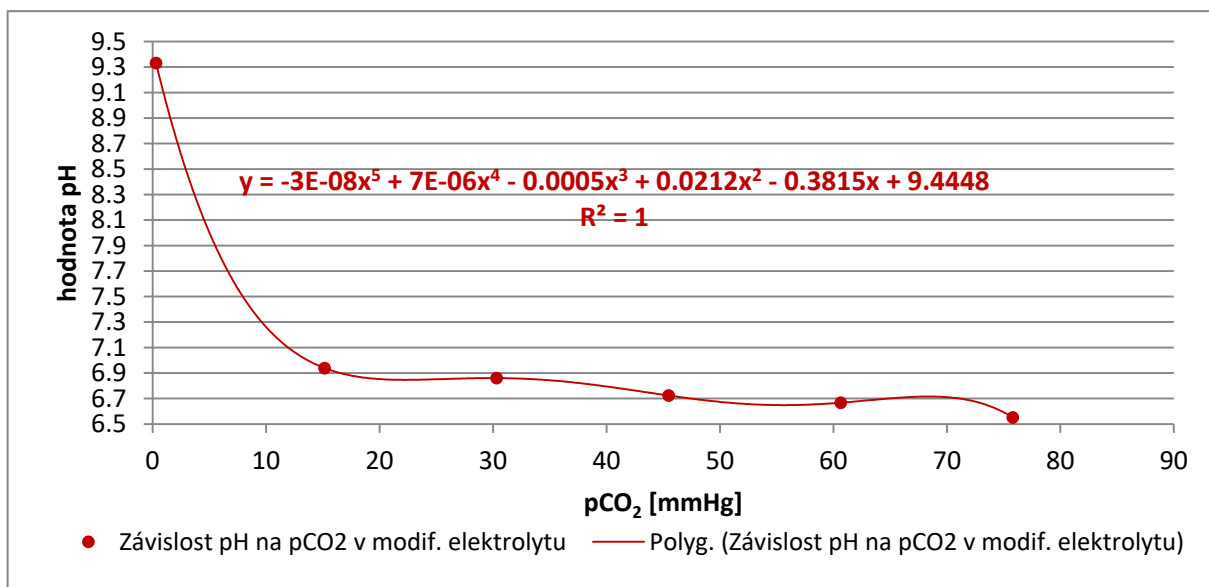
Naměřené body jsou proloženy polynomem pátého stupně, jehož rovnice je uvedena v grafu s hodnotou spolehlivosti 0,9936.

Stejným způsobem byla proměřena křivka závislosti pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v modifikovaném roztoku elektrolytu, u něhož byla předpokládána vyšší strmost křivky v zájmové oblasti parciálních tlaků. Proměřenou závislost změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ měřenou v prvním dni s uvedením rovnice polynomu pátého stupně, kterým jsou naměřené body proloženy a hodnotou spolehlivosti 1, lze vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 86: Závislost změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ v modif. elektrolytu - 1. kampaň, měřeno ISFET senzorem

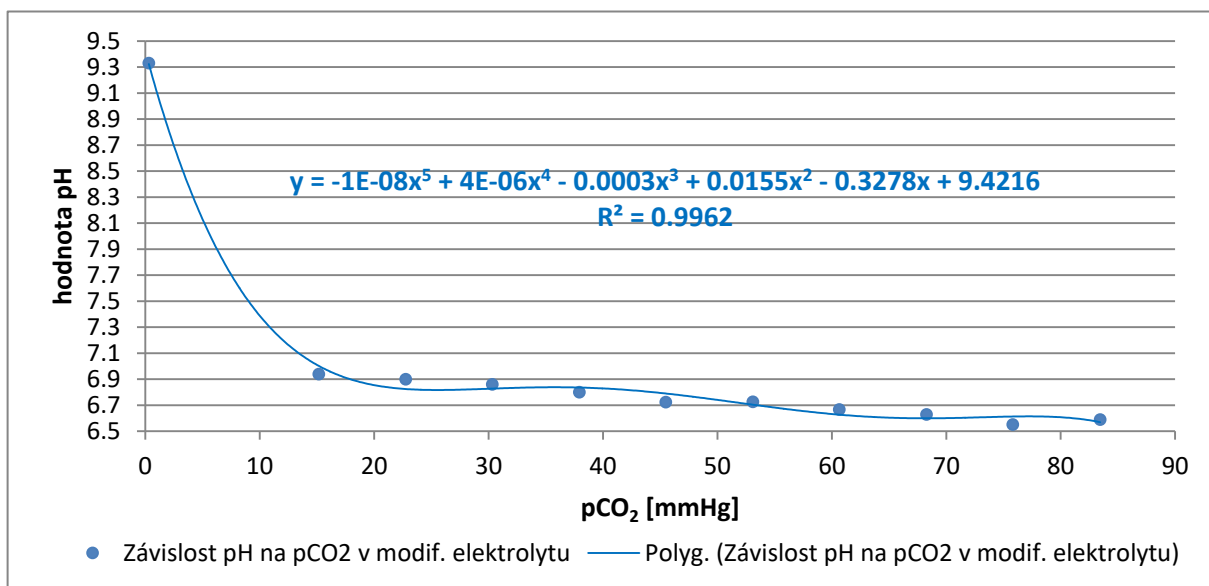
Zbývající body sledované závislosti byly změřeny ve druhé části měřicí kampaně a jsou uvedeny na následujícím obrázku.



Obrázek 87: Závislost změny pH na parciálním tlaku pCO₂ v modif. elektrolytu - 2. kampaň, měřeno ISFET senzorem

Jednotlivé naměřené body jsou proloženy polynomem pátého stupně, jehož rovnice je uvedena na obrázku výše s hodnotou spolehlivosti 1.

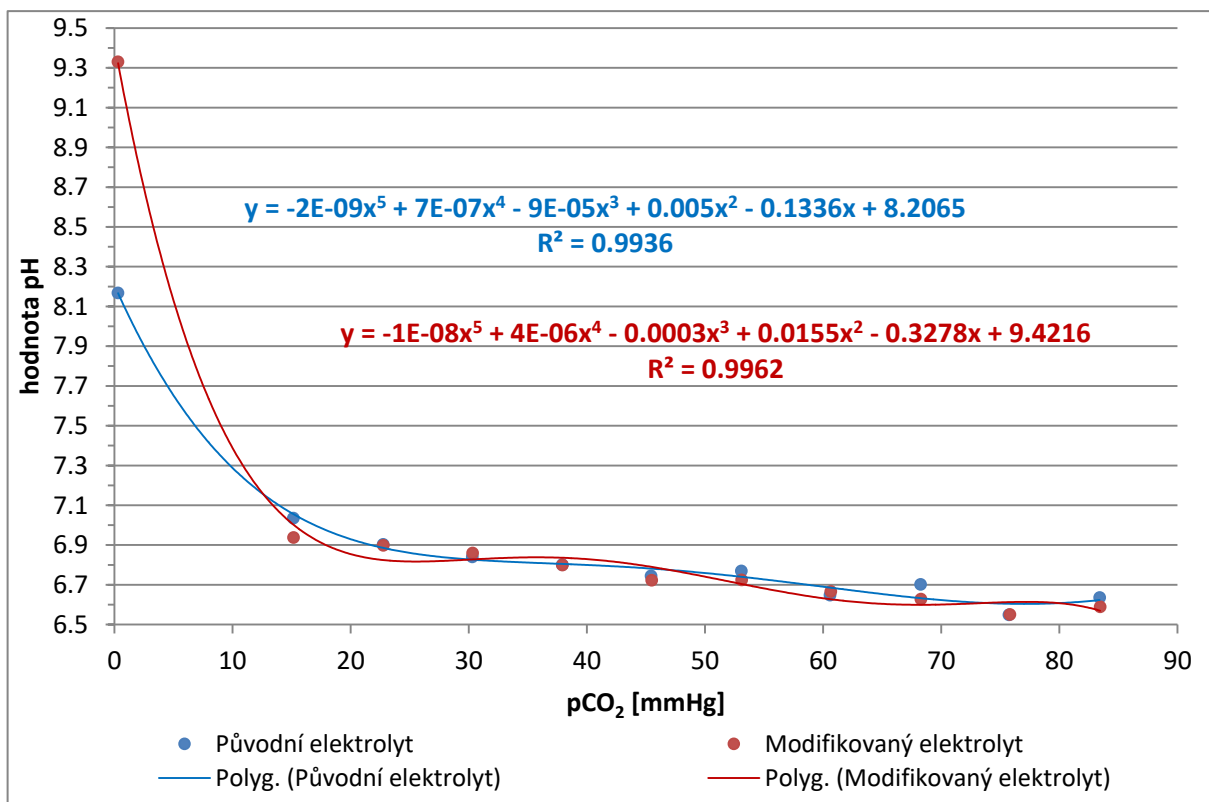
Z proměřených křivek závislostí pH na pCO₂ byl sestrojen graf celkové křivky závislosti pH na pCO₂ pro modifikované složení elektrolytu. Tento graf je uveden na následujícím obrázku.



Obrázek 88: Průběh závislosti změny pH na parciálním tlaku pCO₂ v modifikovaném elektrolytu

Body naměřené křivky jsou proloženy polynomem pátého stupně s hodnotou spolehlivosti 0,9962.

Následně byly celkové křivky závislosti pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ změřené ISFET pH senzorem mezi sebou porovnány. Průběhy závislostí pro oba elektrolyty jsou zobrazeny na následujícím obrázku.



Obrázek 89: Porovnání závislostí změny pH na parciálním tlaku $p\text{CO}_2$ ve dvou ověřovaných elektrolytech – naměřeno ISFET pH senzorem

Ze srovnání uvedených křivek je patrné, že stejně jako u měření skleněnou elektrodou i zde je průběh změny pH v závislosti na změně parciálního tlaku CO_2 pro roztoky obou elektrolytů obdobný. Naměřené body obou elektrolytů mezi sebou vykazují pouze nepatrné odchylky.

Naměřené hodnoty pH v závislosti na změnách parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ jsou přehledně shrnuty pro oba roztoky elektrolytu v následující tabulce s uvedením směrodatných odchylek ustálených hodnot pH. Z těchto dat byly vykresleny grafy závislostí změřené ISFET senzorem uvedené výše.

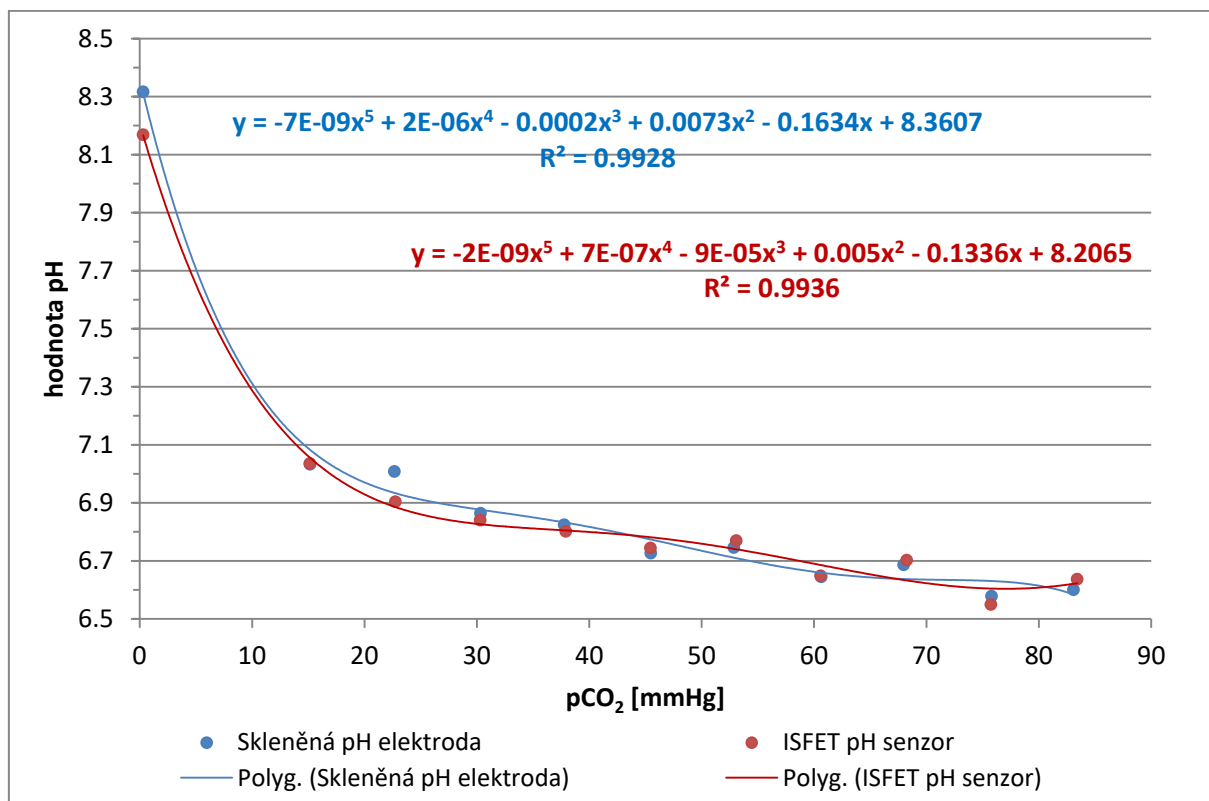
Tabulka 16: Změřené hodnoty pH v závislosti na hodnotě parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ v modelové simulaci CS pro dva roztoky elektrolytu – měřeno skleněnou elektrodou

Původní složení elektrolytu				
Objemové procento CO_2 [%]	Parciální tlak $p\text{CO}_2$ [mmHg]	Průměrná hodnota pH	Směrodatná odchylka	Směrodatná odchylka [%]
0,04	0,303	8,169	0,00362	0,362
2	15,147	7,036	0,00460	0,460
3	22,749	6,904	0,03939	3,939
4	30,294	6,841	0,00379	0,379
5	37,916	6,802	0,01392	1,392
6	45,440	6,745	0,00334	0,334
7	53,082	6,77	0,00446	0,446
8	60,587	6,649	0,00460	0,460
9	68,248	6,703	0,00379	0,379
10	75,734	6,55	0,00379	0,379
11	83,415	6,637	0,00484	0,484
Modifikované složení elektrolytu				
Objemové procento CO_2 [%]	Parciální tlak $p\text{CO}_2$ [mmHg]	Průměrná hodnota pH	Směrodatná odchylka	Směrodatná odchylka [%]
0,04	0,303	9,331	0,00381	0,381
2	15,163	6,939	0,00429	0,429
3	22,761	6,899	0,00774	0,774
4	30,327	6,860	0,00429	0,429
5	37,934	6,800	0,00822	0,822
6	45,490	6,724	0,00554	0,554
7	53,108	6,726	0,00385	0,385
8	60,653	6,667	0,00460	0,460
9	68,282	6,628	0,00472	0,472
10	75,816	6,551	0,00379	0,379
11	83,456	6,590	0,00564	0,564

Z naměřených hodnot v tabulce je patrné, že směrodatná odchylka ustálených hodnot pH se pohybovala v rozmezí 0,334 – 3,939 %.

Porovnání naměřených závislostí pomocí skleněné pH elektrody se závislostmi naměřenými pomocí ISFET pH senzoru.

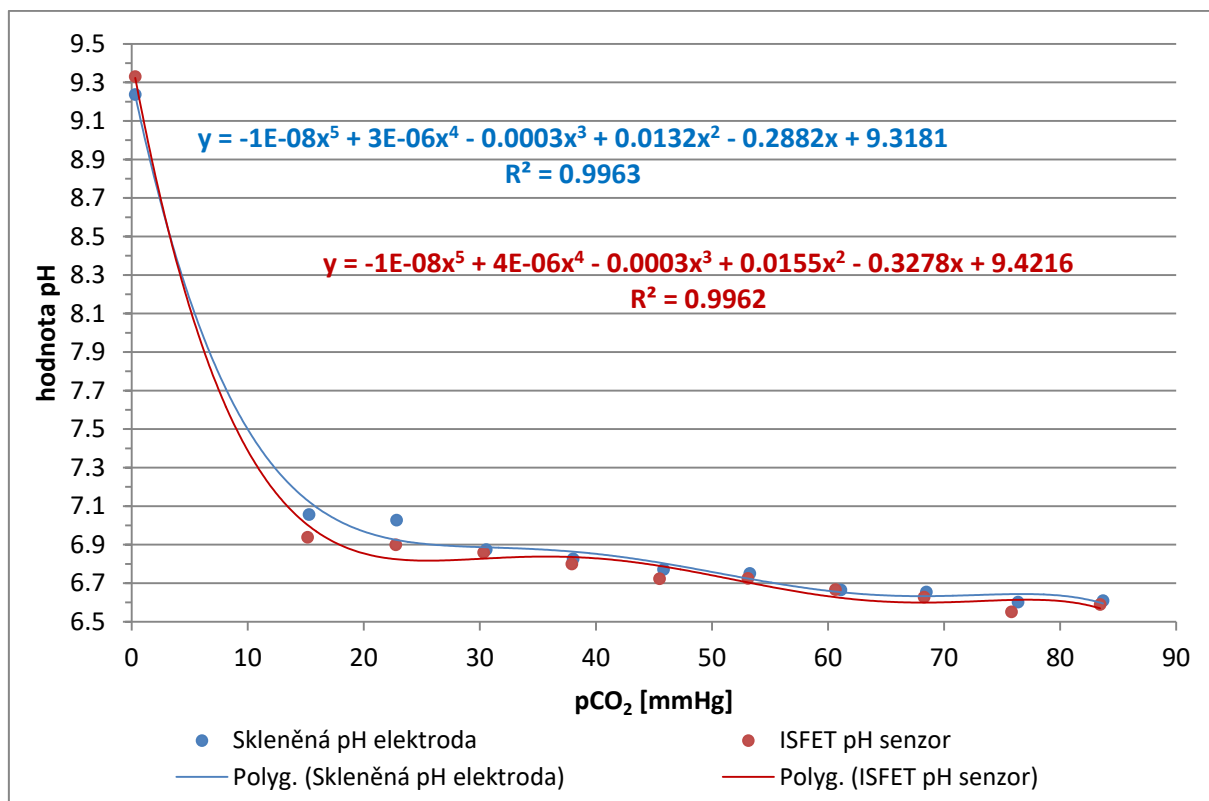
Závislosti změřené skleněnou pH elektrodou byly považovány za „zlatý standard“ sledovaných závislostí. Srovnání slouží především pro posouzení, zda je možné použít ISFET pH senzor pro diagnostiku kompartment syndromu. Porovnání změřených závislostí elektrodou a senzorem v roztoku elektrolytu NaHCO_3 je možné vidět na následujícím obrázku.



Obrázek 90: Porovnání naměřených závislostí pH na změně parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ v roztoku elektrolytu NaHCO_3

Z grafu uvedeného výše je patrné, že naměřené závislosti se s nepatrnými odchylkami v celém průběhu pro použití obou testovaných měřících senzorů (skleněná pH elektroda a ISFET pH senzor) shodují s minimálními odchylkami. Odchylka naměřených hodnot ISFET senzorem se pohybuje v rozmezí 0,003 až -0,148 hodnoty pH oproti hodnotám získaným prostřednictvím skleněné elektrody. Pokud se z naměřených hodnot vyberou pouze data zájmové oblasti, odchylky jsou mnohem menší a pohybují se v rozmezí 0,024 až -0,023 změřené hodnoty pH. Oba průběhy závislosti byly proloženy polynomy pátého stupně, jejichž rovnice je uvedena v grafu společně s hodnotou spolehlivosti.

Pro modifikovaný roztok elektrolytu bylo provedeno stejné srovnání naměřených závislostí. Porovnání naměřených křivek je patrné z následujícího obrázku.



Obrázek 91: Porovnání naměřených závislostí pH na změně parciálního tlaku pCO₂ v modifikovaném roztoku elektrolytu

Stejně jako v prvním porovnání i zde jsou průběhy sledovaných závislostí téměř identické. Odchytky naměřených hodnot pH pomocí ISFET senzoru oproti skleněné pH elektrodě se pohybují v rozmezí 0,093 až -0,129 hodnoty pH, opět s velmi malou hodnotou odchytky v zájmové oblasti parciálního tlaku pCO₂ a to 0,002 až -0,048 hodnoty pH. Změřená křivka závislosti pH na změně parciálního tlaku pCO₂ pomocí ISFET senzoru je proložena polynomem pátého řádu s hodnotou spolehlivosti 0,9962. Křivka závislosti změřená pomocí skleněné pH elektrody je proložena polynomem čtvrtého řádu s hodnotou spolehlivosti 0,9963.

Naměřené body v grafech byly v této práci proloženy polynomy, které predikují vývoj sledované závislosti pH s určitou hodnotou spolehlivosti pro jiné než změřené body parciálního tlaku CO₂. Proložení je vhodné zejména vzhledem k časové náročnosti měření a nemožnosti nastavení jemnějšího rozložení měřených bodů parciálního tlaku CO₂.

Z grafů uvedených na obrázcích 90 a 91 lze soudit, že s ISFET pH senzorem bylo dosaženo téměř stejných výsledků, jako s klasickou skleněnou pH elektrodou, která ovšem není technickými parametry a vlastnostmi koncipována pro měření na povrchu kůže lidského těla. ISFET pH senzor se jeví jako vhodný senzor pro možnou neinvazivní diagnostiku kompartment syndromu. Je ovšem nutné provést další testování a navrhnout redesign senzoru, aby bylo možné použít kompletní senzor přímo na kůži pacientů. Zmíněný redesign spočívá zejména v implementaci referenční elektrody přímo na ISFET senzor a hledání nového složení elektrolytu, který by mohl být použit jako iontoselektivní

membrána senzoru a vykazoval by především vyšší citlivost v zájmových oblastech parciálních tlaků oxidu uhličitého při průběhu kompartment syndromu. Z provedeného ověření průběhu závislosti pH na změně parciálního tlaku $p\text{CO}_2$ v navrženém elektrolytu modifikovaného složení plyne závěr, že toto složení není pro výrobu nového elektrolytu senzoru vhodné a vykazuje naprosto stejnou odezvu, jako elektrolyt původního složení Severinghausovy elektrody.

6 Závěr

Diplomová práce se zabývá problematikou kompartment syndromu, možnostmi jeho diagnostiky se snahou nalézt novou monitorovací metodu s dostatečnou citlivostí, která by umožňovala dlouhodobý neinvazivní online monitoring parciálního tlaku CO_2 , jehož zvýšený tlak kompartment syndrom doprovází.

Dosažené výsledky práce lze přehledně shrnout do následujících bodů:

- Byla provedena literární rešerše týkající se problematiky kompartment syndromu. V teoretické části práce byly popsány příčiny jeho vzniku s uvedením rizikových faktorů. Dále byly nastíněny možnosti jeho terapie. Pro kompartment syndrom je velice důležitá jeho včasná diagnostika, proto byl v teoretické části kladen důraz na popis současných diagnostických metod, které lze pro identifikaci kompartment syndromu použít. Z nich jsou v praxi využívány převážně metody invazivní, které představují punkci jehel do postižené tkáně, což představuje velkou zátěž pro pacienta.
- V rámci teoretické části práce byla provedena i literární rešerše týkající se neinvazivního elektrochemického monitorování elektrochemických projevů fyziologických tkání. Na základě této rešerše byly jako senzory vhodné pro trvalý online monitoring kompartment syndromu vybrány ISFET pH senzory.
- Pro ověření použití těchto senzorů byl navržen a sestaven simulační model kompartment syndromu v laboratorních podmínkách. Při jeho sestavení byl kladen důraz na co největší přiblížení se jeho chování reálnému průběhu kompartment syndromu u člověka, kdy při ischemii v důsledku zvyšujícího se intramuskulárního tlaku CO_2 v postižené tkáni končetiny dochází ke zvýšení jeho parciálního tlaku. Díky vyššímu parciálnímu tlaku CO_2 dochází k jeho zvýšenému pronikání přes povrch pokožky. Tohoto jevu bylo využito k návrhu experimentální metodiky, kdy byl zvyšující se parciální tlak pCO_2 ve tkáni modelován objemovým zlomkem CO_2 ve směsi se vzduchem.
- Dle navržené metodiky měření byla sestavena experimentální aparatura představovaná trojhrdlou baňkou naplněnou elektrolytem, do kterého byla vháněna směs CO_2 se vzduchem při konstantním celkovém průtoku. Při zvyšování parciálního tlaku pCO_2 reprezentovaného zvýšením jeho objemového zlomku ve směsi se vzduchem dochází v elektrolytu ke změnám pH, které byly registrovány pomocí skleněné pH elektrody a ISFET pH senzoru.
- Pro zpracování výstupního signálu z ISFET pH senzoru byly zkonstruovány vyhodnocovací moduly ve dvou verzích a byla provedena jejich kalibrace s ISFET pH senzory.
- Pro online sběr dat z pH metru WTW 3310 byl úspěšně nastaven a využit software OS terminal, který umožňuje export souboru naměřených hodnot z přístroje do softwarového prostředí MS Excel, ve kterém byly naměřené hodnoty vyhodnocovány. Pro měření výstupního signálu z elektroniky pro ISFET pH senzory byl využit multimetr Voltcraft VC830. Naměřená data z něj byla přenášena pomocí komunikačního kabelu opět

do softwarového prostředí MS Excel. Pro vyhodnocování získaných experimentálních dat byla v prostředí MS Excel naprogramována makra.

- Pro sestavenou experimentální aparaturu byla navržena experimentální procedura měření, která zohledňovala rychlost ohřevu elektrolytu v termostatované lázni, teplotní stabilitu ohřevu, přípravu směsi CO_2 se vzduchem a následnou kinetiku ustavování chemické rovnováhy reprezentované časovou změnou pH při změně objemového zlomku oxidu uhličitého. S ohledem na zájmovou oblast parciálních tlaků oxidu uhličitého při nástupu a průběhu kompartment syndromu plynoucí z literární rešerše byly navrženy testované parciální tlaky oxidu uhličitého. Pro nastavení těchto navržených testovaných bodů objemového složení směsi byly změřeny kalibrační křivky použitých průtokoměrů obou plynů (CO_2 a vzduchu).
- Pro navržené testované parciální tlaky oxidu uhličitého byla sledována hodnota pH, která byla monitorována prostřednictvím skleněné pH elektrody a prostřednictvím ISFET pH senzoru, kdy výsledky získané pomocí skleněné elektrody tvoří tzv. „zlatý standard“ pro porovnání s výsledky získaných pomocí ISFETů s elektrolyty různých složení.
- Jako testované elektrolyty reagující změnou svého pH na modelovaný parciální tlak pCO_2 ve směsi se vzduchem byly použity následující roztoky: 0,01 M NaHCO_3 (elektrolyt inspirovaný Severinghausovou elektrodou využívanou k analýze krevních plynů, konkrétně stanovení pCO_2) a směsný roztok 0,008 M NaHCO_3 + 0,002 Na_2CO_3 , u kterého byla na základě literární rešerše předpokládána strmější závislost změny pH na pCO_2 .
- Porovnáním průběhů naměřených závislostí pH na změně parciálního tlaku pCO_2 pomocí skleněné pH elektrody a ISFET pH senzoru v roztoku elektrolytu NaHCO_3 je zřejmé, že obě závislosti vykazují shodu. Obdobně tomu je i v modifikovaném složení elektrolytu, ve kterém je výrazná shoda rovněž zřejmá. Drobné odchylky naměřených hodnot ISFET pH senzorem mohou být způsobeny nepřesností elektronických součástek ve vyrobených modulech pro zpracování signálu z ISFET senzoru a odchylkami měřicích a regulačních komponentů v sestavené aparatuře, které jsou udávány výrobcem. Tyto odchylky vnáší do navrženého modelu simulujícího kompartment syndrom určité nepřesnosti, které se promítají do výsledných naměřených hodnot.
- Při ověření teoretického předpokladu vyšší citlivosti změny pH na parciálním tlaku pCO_2 pro elektrolyt modifikovaného složení se tento předpoklad neprokázal. Průběhy závislostí pH na změně parciálního tlaku pCO_2 se sice liší od původního elektrolytu zejména počáteční hodnotou pH, ale ostatní naměřené body vykazují s malými odchylkami stejný trend změny pH na pCO_2 , jako v původním elektrolytu nemodifikovaného složení.

Získanými výsledky se podařilo jednoznačně ověřit možnost využití ISFET pH senzorů pro monitoraci průběhu kompartment syndromu prostřednictvím změny parciálního tlaku pCO_2 . Naměřené křivky tímto senzorem se shodují s křivkami naměřenými pomocí skleněné pH elektrody v modelovém systému kompartment syndromu.

V návaznosti na tuto práci by bylo vhodné provést další měření využívající navrženou experimentální proceduru se zaměřením na testování elektrolytů jiného složení, které by byly schopny parciální tlak oxidu uhličitého prostřednictvím změny pH registrovat a ve kterých by bylo dosaženo větší citlivosti - strmějšího průběhu sledované závislosti.

Dále by bylo vhodné se zaměřit na redesign ISFET pH senzoru, konkrétně na implementaci referenční elektrody přímo na tělo senzoru s možnou změnou iontoselektivní membrány, vyplývající z nalezení elektrolytu vhodnějšího složení. S takto upraveným senzorem doporučuji provést laboratorní měření na navrženém modelu kompartment syndromu s ověřením funkčnosti tohoto prototypu v laboratorních podmínkách.

V případě dosažení pozitivních výsledků je možné s redesignovaným ISFET pH senzorem provést ověřovací testy na opech v souladu s publikovanými studiemi. Klinické testy na pacientech mohou probíhat srovnávací formou, kdy bude ISFET pH senzor přiložen pacientovi na kůži a výsledky měření budou přímo porovnávány s výsledky získanými invazivní metodou.

V případě, že by byly ověřeny všechny předpoklady tohoto senzoru v provedených testech, jednalo by se o perspektivní neinvazivní diagnostickou metodu pro dlouhodobou kontinuální monitoraci rizika kompartment syndromu, která by velmi vysokou mírou snížila traumatickou zátěž pacienta v průběhu léčby.

Použitá literatura

- [1] A. Lepre, A. Zerdoum, C. Belfer, and T. Kaverina, "Non-invasive Compartment Syndrome diagnosis," in 2012 38th Annual Northeast Bioengineering Conference (NEBEC), 2012, pp. 17-18.
- [2] L. Fernandez, "Acute Compartment Syndrome: The Indications and Application of Negative Pressure Therapy," *Current Dialogues in Wound Mangement*, vol. VOLUME 3, pp. 5-8, 2017.
- [3] A. Saber, "Compartment syndromes," *Journal of Acute Disease*, vol. 3, no. 3, pp. 169 - 177, 2014.
- [4] P. Gál and F. Tecl, *Compartment syndrom - závažná komplikace chirurgie a traumatologie, Edice kontinuálního vzdělávání v medicíně č. 1 ed. (1. vyd.)*. Brno: Masarykova univerzita, 1999.
- [5] J. Donaldson, B. Haddad, and W. S. Khan, "The pathophysiology, diagnosis and current management of acute compartment syndrome," *The open orthopaedics journal*, vol. 8, pp. 185-193, 2014.
- [6] A. H. Schmidt, "Acute compartment syndrome," *Injury*, vol. 48, pp. S22 - S25, 2017.
- [7] A. M. Alshahrani *et al.*, "Acute Compartment Syndrome Prevalence and Outcome in Aseer Central Hospital," vol. 71, no. 6, pp. 3322-3327, 2018.
- [8] K. A. a. E. J. S. EGOL, *Emergency room orthopaedic procedures: an illustrative guide for the house officer*. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers, 2012.
- [9] K. Sigamoney, P. Khincha, R. Badge, and N. Shah, "Compartment syndrome: challenges and solutions," *Orthopedic Research and Reviews*, vol. 7, pp. 137-148, 4 November 2015 2015.
- [10] V. W. Wong, P. J. Hanwright, and M. A. Manahan, "Can Extravasation Injury Cause Subcutaneous Compartment Syndrome of the Hand?," *Plastic Surgery Case Studies*, vol. 3, p. 2513826X17728258, 2017.
- [11] I. V. Papachristos and P. V. Giannoudis, "Acute compartment syndrome of the extremities: an update," vol. 32, no. 4, pp. 223-228, 2018.
- [12] M. S. Abdullah, N. S. Al-Waili, G. Butler, and N. K. Baban, "Hyperbaric Oxygen as an Adjunctive Therapy for Bilateral Compartment Syndrome, Rhabdomyolysis and Acute Renal Failure after Heroin Intake," vol. 37, no. 4, pp. 559-562, 2006.
- [13] C. Owen, A. Cavalcanti, V. Molina, and C. Honoré, "Decompressive fasciotomy for acute compartment syndrome of the leg," vol. 153, no. 4, pp. 293-296, 2016.
- [14] M. M. McQueen and A. D. Duckworth, "The diagnosis of acute compartment syndrome: a review," vol. 40, no. 5, pp. 521-528, 2014.
- [15] K. Lor Kah Ho, C. S. N. Yeoh, K. Phang Wong, and A. Wee Teck Huat, "Raised compartment pressures are frequently observed with tibial shaft fractures despite the absence of compartment syndrome: A prospective cohort study. 2017, p. 230949901771736.

- [16] F. R. MATSEN, R. A. WINQUIST, and R. B. KRUGMIRE, "Diagnosis and management of compartmental syndromes.," vol. 62.2, ed, 1980, pp. 286-291.
- [17] R. K. Beniwal and A. Bansal, "Osteofascial compartment pressure measurement in closed limb injuries – Whitesides' technique revisited," vol. 7, no. 4, pp. 225-228, 2016.
- [18] R. Tepordei, G. Teodor Stefan, T. Cozma, A. Nedelcu, O. Alexa, and Z. Carmen, A comparison of pressure measurement devices used in the acute compartment syndrome of the limbs. 2014, pp. 369-372.
- [19] I. Clausen and T. Glott, "Development of clinically relevant implantable pressure sensors: perspectives and challenges," *Sensors (Basel, Switzerland)*, vol. 14, no. 9, pp. 17686-17702, 2014.
- [20] A. Nilsson, Q. Zhang, and J. Styf, "Evaluation of a fiber-optic technique for recording intramuscular pressure in the human leg," vol. 30, no. 5, pp. 699-705, 2016.
- [21] S. Poeggel, D. Tosi, D. Duraibabu, G. Leen, D. McGrath, and E. Lewis, "Optical Fibre Pressure Sensors in Medical Applications," *Sensors*, vol. 15, no. 7, p. 17115, 2015.
- [22] S. H. Miller, R. J. Lung, W. P. Graham, T. S. Davis, and I. Rusenas, "The acute effects of tourniquet ischemia on tissue and blood gas tensions in the primate limb," vol. 3, no. 1, pp. 11-20, 1978.
- [23] G. G. Nicholas and S. H. Miller, "The anterior tibial compartment syndrome: tissue gas tension measurement," *Journal of Surgical Research*, vol. 24, no. 4, pp. 334-338, 2019/03/05 1978.
- [24] A. J. Johnstone and K. G. Elliott, "ACUTE COMPARTMENT SYNDROME: INTRAMUSCULAR PH SUPERSEDES PRESSURE IN MAKING THE DIAGNOSIS," *Orthopaedic Proceedings*, vol. 95-B, no. SUPP_16, pp. 38-38, 2019/01/28 2013.
- [25] B. D. Steinberg, "Evaluation of limb compartments with increased interstitial pressure. An improved noninvasive method for determining quantitative hardness," vol. 38, no. 8, pp. 1629-1635, 2005.
- [26] K. F. Dickson, M. J. Sullivan, B. Steinberg, L. Myers, E. R. Anderson, and M. Harris, "Noninvasive measurement of compartment syndrome," *Orthopedics*, vol. 26, no. 12, pp. 1215-1218, 2003.
- [27] B. Joseph, R. A. Varghese, K. Mulpuri, S. Paravatty, S. Kamath, and N. Nagaraja, "Measurement of tissue hardness: can this be a method of diagnosing compartment syndrome noninvasively in children?," *Journal of Pediatric Orthopaedics B*, vol. 15, no. 6, pp. 443-448, 2006, doi: 10.1097/01.bpb.0000236226.21949.5c.
- [28] H. Raza and A. Mahapatra, "Acute Compartment Syndrome in Orthopedics: Causes, Diagnosis, and Management," *Advances in Orthopedics*, vol. 2015, p. 8, 2015, Art no. 543412, doi: 10.1155/2015/543412.
- [29] M. R. M. S. S. a. B. A. F. Ashley L Cole, "Near Infrared Spectroscopy and Lower Extremity Acute Compartment Syndrome: A Review of the Literature," *Trauma & Treatment*, vol. 3, no. 2, pp. 1-5, 2014, doi: 10.4172/2167-1222.S2-003.

- [30] J. L. Garr, L. M. Gentilello, P. A. Cole, C. N. Mock, and F. A. Matsen, "Monitoring for compartmental syndrome using near-infrared spectroscopy: a noninvasive, continuous, transcutaneous monitoring technique," *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, vol. 46, no. 4, pp. 613-618, 1999.
- [31] S. H. Lee, M. Padilla, J. E. Lynch, and A. R. Hargens, "Noninvasive Measurements of Pressure for Detecting Compartment Syndromes," *Journal of orthopedics & rheumatology*, vol. 1, no. 1, pp. 5-5, 2013.
- [32] T. W. L. Scheeren, P. Schober, and L. A. Schwarte, "Monitoring tissue oxygenation by near infrared spectroscopy (NIRS): background and current applications," vol. 26, no. 4, pp. 279-287, 2012.
- [33] A. Bloch, C. Tomaschett, S. M. Jakob, A. Schwinghammer, and T. Schmid, "Compression sonography for non-invasive measurement of lower leg compartment pressure in an animal model," vol. 49, no. 3, pp. 532-537, 2018.
- [34] J. Wiemann et al., "Noninvasive measurements of intramuscular pressure using ultrasound in a model compartment syndrome," in *FASEB JOURNAL*, 2005, vol. 19, no. 5: FEDERATION AMER SOC EXP BIOL 9650 ROCKVILLE PIKE, BETHESDA, MD 20814-3998 USA, pp. A1123-A1123.
- [35] D. Wassermann and Z. Oschman, "Role of ultrasound as a non-invasive method of diagnosis of chronic exertional compartment syndrome," *SA Orthopaedic Journal*, vol. 10, pp. 59-65, 2011.
- [36] J. E. Lynch, J. K. Lynch, S. L. Cole, J. A. Carter, and A. R. Hargens, "Noninvasive monitoring of elevated intramuscular pressure in a model compartment syndrome via quantitative fascial motion," *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 27, no. 4, pp. 489-494, 2019/02/16 2009.
- [37] M. B. Rominger, C. J. Lukosch, and G. F. Bachmann, "MR imaging of compartment syndrome of the lower leg: a case control study," *European Radiology*, journal article vol. 14, no. 8, pp. 1432-1439, August 01 2004, doi: 10.1007/s00330-004-2305-5
- [38] J. Heřman, Z. Heřmanová, R. Salzman, J. Vomáčka, and I. Stárek. (2015) Elastografie a její využití v oblasti hlavy a krku. *Časopis lékařů českých*. 222-226.
- [39] T. Inami and Y. Kawakami, "Assessment of individual muscle hardness and stiffness using ultrasound elastography," vol. 5, no. 4, pp. 313-317, 2016.
- [40] T. K. Koo, J.-Y. Guo, J. H. Cohen, and K. J. Parker, "Quantifying the passive stretching response of human tibialis anterior muscle using shear wave elastography," vol. 29, no. 1, pp. 33-39, 2014.
- [41] P. D Edwards, K. Miles, S. J Owens, P. M Kemp, and J. R Jenner, A new non-invasive test for the detection of compartment syndrome. 1999, pp. 215-8.
- [42] L. Trease et al., "A prospective blinded evaluation of exercise thallium-201 SPET in patients with suspected chronic exertional compartment syndrome of the leg," *European Journal of Nuclear Medicine*, journal article vol. 28, no. 6, pp. 688-695, June 01 2001, doi: 10.1007/s002590100527.

- [43] S. F. Khalil, M. S. Mohktar, and F. Ibrahim, "The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases," *Sensors (Basel, Switzerland)*, vol. 14, no. 6, pp. 10895-10928, 2014.
- [44] S. Tonkovic, I. Tonkovic, and D. Kovacic, "Bioelectric impedance analysis of lower leg ischaemic muscles," in *Proceedings of the 22nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (Cat. No.00CH37143)*, 23-28 July 2000 2000, vol. 1, pp. 757-760 vol.1.
- [45] S. Tonkovic and D. Voloder, "Compartmental syndrome diagnostics using custom designed bioimpedance analyzer," in *MELECON '98. 9th Mediterranean Electrotechnical Conference. Proceedings (Cat. No.98CH36056)*, 18-20 May 1998 1998, vol. 2, pp. 1480-1484 vol.2.
- [46] S. T. Challa, A. R. Hargens, A. Uzosike, and B. R. Macias, "Muscle Microvascular Blood Flow, Oxygenation, pH, and Perfusion Pressure Decrease in Simulated Acute Compartment Syndrome," *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, vol. 99, no. 17, pp. 1453-1459, 2017.
- [47] KALNÝ, Daniel. Složení vnitřního elektrolytu detektoru. Blansko, 2018.
- [48] Foot Compartment Syndrome – Trauma – Orthobullets. *Orthobullets* – www.orthobullets.com [online]. Copyright © 2019 Lineage Medical, Inc. All rights reserved. [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://www.orthobullets.com/trauma/1065/foot-compartment-syndrome>
- [49] Compartment Syndrome. *DoveMed | Trusted health information for better life* [online]. Dostupné z: <https://www.dovemed.com/diseases-conditions/compartment-syndrome/?reload>
- [50] Pardubická nemocnice [online]. Copyright ©HE [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <http://pardubice.nempk.cz/sites/default/files/nemocnice-pardubice/obsah/stranky/krivankovy-dny/soubory/13cs.pdf>
- [51] Compartment Syndrome of the Lower Leg – Physiopedia. [online]. Copyright © 1984 British Editorial Society of Bone and Joint Surgery vol. 66 [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: https://www-physio-pedia.com/Compartment_Syndrome_of_the_Lower_Leg
- [52] Non-invasive Limb Compartment Pressure Measurement – Full Text View – ClinicalTrials.gov. *Home – ClinicalTrials.gov* [online]. [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03730688>
- [53] SWAMINATHAN, Anand. Compartment Syndrome. *CORE EM* [online]. 2015 [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://coreem.net/core/compartment-syndrome/>
- [54] Quick Pressure Monitor Sets by Stryker | Medline Industries, Inc.. *Medline:Manufacturer, Distributor of Healthcare Products and Solutions* [online]. Copyright © [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://www.medline.com/product/Quick-Pressure-Monitor-Sets-by-Stryker/Pressure-Infusors/Z05-PF42602>

- [55] CW CWM001 Wireless Transceiver for blood pressure measurement User Manual Users Manual Centurion Medical Products. *FCC ID Search* [online]. Copyright ©2016 Centurion Medical Products Corporation [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: https://fccid.io/2AF4Z-CWM011/User-Manual/Users_manual-3107783
- [56] Medline: Manufacturer, *Distributor of Healthcare Products and solutions* [online]. Copyright © [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: https://www.medline.com/media/catalog/sku/cmp/CMPPSN001_PRI01.JPG
- [57] Opsens fiber optic sensing technologies. *Fiber Optical sensors for industrial applications – Opsens Solutions* [online]. Copyright © 2019 [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: https://opsens-solutions.com/wp-content/uploads/sites/4/2019/03/IMP0002-WLPI-REV3_0.pdf
- [58] American Laboratory. *The Ultimate Resource for Laboratory Scientists Home* | American Laboratory [online]. Copyright © 2019 [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://www.americanlaboratory.com/617-News/1351-Revolutionary-Ultra-Miniature-Fiber-Optic-Pressure-Sensors/>
- [59] Wheatstoneův můstek :: MEF. *Fyzika :: MEF* [online]. Copyright © 2006 [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/1631-wheatstoneuv-mustek>
- [60] Synthes (West Chester, PA) hand-held compartment pressure monitor. | Download Scientific Diagram. ReserchGate | *Share and discover research* [online]. Copyright © ResearchGate [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/Synthes-West_Chester-PA-hand-held-compartment-pressure-monitor_fig4_272512127
- [61] DORO, Chrisopher. *Improving Diagnostic Technology of Acute Compartment Syndrome by Quantifying Intramuscular Glucose* [online]. Wisconsin university, 2017 [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <http://bmedesign.engr.wisc.edu/projects/file/?fid=5657>
- [62] STEINBERG, Bruce. Systém and method for noninvasively evaluating a limb suspected of compartment syndrome. Uděleno 2001.
- [63] Study Describes „Game Changer“ Technology for Diagnosing Compartment Syndrome. *AAOS* [online]. Copyright © 1995 [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://www.aaos.org/AAOSNow/2017/mar/Clinical/clinical02/?ssopc=1>
- [64] Scintigrafie | Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK. Uvod | *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. Copyright © 2011 MUDr. Jiř [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/?q=scintigrafie>
- [65] FORMÁNEK, Josef. Výukové texty pro předmět Měřící technika: Podklady k principu měření hodnoty pH a vodivosti kapalin [online]. [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <http://home.zcu.cz/~formanek/mmvvyuka/Data/ivk-mt-soubory/14-F.pdf>
- [66] Měření pH [online]. [cit. 28.03.2019]. Dostupné z <http://home.tiscali.cz/chemie/index.html>
- [67] Ph Scale. In: VectorStock [online]. [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/the-ph-scale-vector-17799635>

- [68] Membránové elektrody. *Učebnice* [online]. [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: http://ach.upol.cz/ucebnice2/memb_eldy.html
- [69] Skleněná elektroda/podrobnosti – WikiSkripta. [online]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Sklen%C4%9Bn%C3%A1_elektroda/podrobnosti
- [70] pH Electrodes – Chemistry LibreTexts. Home – Chemistry LibreTexts [online]. Copyright © 2019 Chemistry LibreTexts [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: [https://chemi.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/JASDL/Courseware/Analytical_Electrochemistry%3A_Potentiometry/05_pH_Electrodes](https://chemi.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/JASDL/Courseware/Analytical_Electrochemistry%3A_Potentiometry/05_pH_Electrodes)
- [71] SEDLÁKOVÁ, Kateřina. Sterilizační a autoklávní snímač ISFET pro měření pH TopHit CPS 471. *Docplayer* [online]. [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/15857813-Sterilizacni-a-autokavni-snimac-isfet-pro-mereni-ph-tophit-cps-471.html>
- [72] Ion Sensitive Field-Effect Transistor – ISFET Working Principle. [online]. Copyright © Elprocus [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://www.elprocus.com/ion-sensitive-field-effect-transistor-isfet-working-principle/>
- [73] Microsens SA – Integrated Electrochemical Sensors. *Welcome to Microsens SA* [online]. Dostupné z: <http://microsens.ch/products/elchem.html>
- [74] BERGVELD, P. *ISFET, Theory and Practice: IEEE SENSOR CONFERENCE TORONTO* [online]. 2003 [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <http://tmece.nectec.or.th/public/uploaded/products/isfet/ISFET2016/ISFET-Bergveld.pdf>
- [75] Glass pH electrode vs ISFET pH Electrode. *Kremesti Environmental Consulting – Water Treatment and Chemistry Specialists* [online]. Dostupné z: http://kremesti.com/water/glass_vs_ISFET_pH_Electrode.html
- [76] SKLÁDAL, Petr. Biosenzory. SKLÁDAL, Petr. *Biosenzory* [online]. 1. Masarykova univerzita Brno, 2002, 12 - 17 [cit. 2019-04-06]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/C9100/um/biosensory_pro_tisk.pdf
- [77] *pH ISFET specifications* [online]. Copyright © [cit. 06.04.2019]. Dostupné z: http://gtq.imb-cnm.csic.es/docs/pH_ISFET_especifications.pdf
- [78] Plyny - Fyzika online | učitel.NET. Online škola - Učiva Základní Školy Na Netu | učitel.NET [online]. Copyright © 2010 [cit. 27.03.2019]. Dostupné z: <http://www.ucitel.net/fyzika/plyny>
- [79] OBECNÁ CHEMIE: 6. Osmotický tlak, rozpustnost plynů v kapalinách, Henryho zákon. OBECNÁ CHEMIE [online]. Dostupné z: <http://chemie-obecna.blogspot.com/2011/08/13-osmoticky-tlak-rozpustnost-plynu-v.html>
- [80] KUBÁČEK, Pavel. Roztoky - Raoultův a Henryho zákon. *Základy fyzikální chemie* [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2011 [cit. 2019-04-06]. Dostupné z: https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js11/fyz_chem/web/idealni/roztoky.htm
- [81] ADAMEC, Mojmír a Marcela ADAMCOVÁ. Laboratorní průvodce: Informační portál pro laboratorní praxe. *Laboratorní průvodce* [online]. © REMION, 1991 [cit. 2019-04-06]. Dostupné z: <http://www.labo.cz/sl/vy06.htm>

- [82] SCHOŘOVÁ, Martina. Měření nasycení krve kyslíkem. Brno, 2011. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Milan Chmelař
- [83] K. Zdeněk and a. kolektiv, *Techniky a technologie v chirurgických oborech: Vybrané kapitoly*. Grada Publishing a.s., 2011.
- [84] Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi 2015. *Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi 2015*[online]. Dostupné z: <http://www.demo4.smitka.eu/encyklopedie/A/STAAK.html>
- [85] ROHLA, Bohuslav. *Technologie kvantitativních metod* [online]. [cit. 28.03.2019]. Dostupné z: <https://adoc.tips/technologie-kvantitativnich-metod.html>
- [86] INSTITUTE OF MICROELECTRONICS OF BARCELONA IMB-CNM. *PH ISFET specifications.pdf*. Spain, 2019, 1 s.